

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Sistemática molecular de las lagartijas del género *Alopoglossus* (Autarchoglossa:
Gymnophthalmidae) en el Ecuador**

Disertación previa a la obtención del título de Licenciatura en Ciencias Biológicas

Simón Eduardo Lobos Parreño

Quito, 2013

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la candidata Simón Eduardo Lobos Parreño ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Omar Torres Carvajal, Ph.D.

Director de la Disertación

Mayo de 2013

A mi manzanita

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Omar Torres Carvajal por darme la oportunidad de aprender una rama tan apasionante como la sistemática, por brindarme la confianza y paciencia para desarrollar el presente estudio. A Pablo Venegas de la División de Herpetología, Centro de Ornitología y Biodiversidad (CORBIDI, Lima, Perú) por el préstamo de muestras de tejidos de especies de *Alopoglossus* del Perú. Al Dr. Santiago Ron y a la Dra. María Eugenia Ordoñez por sus valiosos comentarios. Del mismo modo al Dr. Charlie Barnes, María José Pozo y Andrea Manzano por su asistencia en el Laboratorio de Biología Molecular de Herpetología. A amigos y miembros del QCAZ por sus comentarios y consejos durante el desarrollo de mi tesis, principalmente a Pablo Menéndez, Diego Páez, Teresa Camacho, Vanessa Aguirre, Diana Troya, Paola Mafla y Fernando Ayala.

Y nada de esto hubiera sido posible sin el apoyo de a mis padres y hermana por su amor incondicional. De igual manera para Estefanía Boada por su invaluable paciencia y cariño durante todos estos años. Finalmente, a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador y al SENESCYT, en el marco del proyecto “Inventario y caracterización Genética y Morfológica de la Diversidad de Anfibios, Reptiles y Aves de los Andes del Ecuador” No. 008-09 ICFAU-DNB/MA por el financiamiento de la presente investigación.

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	v
TABLA DE CONTENIDOS	vi
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	xii
LISTA DE ANEXOS	xiv
1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT.....	2
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1 HISTORIA TAXONÓMICA DEL GÉNERO <i>Alopoglossus</i>	3
3.2 SISTEMÁTICA MOLECULAR.....	7
3.3 JUSTIFICACIÓN	9
3.4 OBJETIVOS	10
3.4.1 GENERAL	10
3.4.2 ESPECÍFICOS	10
4. MATERIALES Y MÉTODOS	11
4.1 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	11

4.2. EXTRACCIÓN, PCR Y SECUENCIACIÓN DE ADN.....	11
4.3 ANÁLISIS FILOGENÉTICOS.....	13
4.3.1 MÁXIMA VEROSIMILITUD.....	15
4.3.2 INFERENCIA BAYESIANA	15
4.4 ESTIMACIÓN DE TIEMPOS DE DIVERGENCIA	17
4.5 DISTANCIAS GENÉTICAS Y DELIMITACIÓN DE ESPECIES.....	19
5. RESULTADOS	21
5.1 ANÁLISIS FILOGENÉTICOS.....	21
5.1.1 ANÁLISIS DE GENES INDIVIDUALES	21
5.1.2 ANÁLISIS DE DATOS COMBINADOS	23
5.2 ESTIMACIÓN DE TIEMPOS DE DIVERGENCIA	26
5.3 DISTANCIAS GENÉTICAS Y DELIMITACIÓN DE ESPECIES.....	28
5.3.1 MÉTODOS $P_{(AB)}$ y p_{ID}	28
5.3.2 MODELO MIXTO GENERALIZADO DE COALESCENCIA DE YULE	29
6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	31
6.1 RELACIONES ENTRE <i>Alopoglossus</i> Y EL RESTO DE GIMNOFTÁLMIDOS	32
6.2 RELACIONES FILOGENÉTICAS DENTRO DE <i>Alopoglossus</i>	35
6.3 DISTANCIAS GENÉTICAS Y DELIMITACIÓN DE ESPECIES.....	36
7. LITERATURA CITADA.....	39

8. FIGURAS	54
9. TABLAS	78
10. ANEXOS	89

LISTA DE FIGURAS

1. Vista dorsolateral y ventral de las especies de <i>Alopoglossus</i> registradas en el Ecuador....	55
2. Mapa de distribución de los clados del género <i>Alopoglossus</i> inferidos en los análisis filogenético.	56
3. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen mitocondrial 12S, estrategia de partición 1.....	57
4. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen mitocondrial 12S, estrategia de partición 1..	58
5. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen mitocondrial 16S, estrategia de partición 2.....	59
6. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen mitocondrial 16S, estrategia de partición 2..	60
7. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen mitocondrial ND4, estrategia de partición 3.....	61
8. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen mitocondrial ND4, estrategia de partición 3.....	62
9. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen mitocondrial ND4, estrategia de partición 4 (1 ^{ra} , 2 ^{da} y 3 ^{ra} posición de codón).....	63
10. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen mitocondrial ND4, estrategia de partición 4 (1 ^{ra} , 2 ^{da} y 3 ^{ra} posición de codón)	64

11. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen nuclear c-mos, estrategia de partición 5	65
12. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen nuclear c-mos, estrategia de partición 5	66
13. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen nuclear c-mos, estrategia de partición 6 (1 ^{ra} , 2 ^{da} y 3 ^{ra} posición de codón)	67
14. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen nuclear c-mos, estrategia de partición 6 (1 ^{ra} , 2 ^{da} y 3 ^{ra} posición de codón).....	68
15. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano de los genes mitocondriales, estrategia de partición 7 (12S, 16S y ND4)	69
16. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud de los genes mitocondriales, estrategia de partición 7 (12S, 16S y ND4)	70
17. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano de los genes mitocondriales, estrategia de partición 8 (12S, 16S, 1 ^{ra} , 2 ^{da} y 3 ^{ra} posición de los codones de ND4).....	71
18. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud de los genes mitocondriales, estrategia de partición 8 (12S, 16S, 1 ^{ra} , 2 ^{da} y 3 ^{ra} posición de los codones de ND4).....	72
19. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano de los genes combinados, estrategia de partición 9 (12S, 16S, ND4 y c-mos).	73
20. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud de los genes combinados, estrategia de partición 9 (12S, 16S, ND4 y cmos).....	74

21. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano de los genes combinados, estrategia de partición 10 (12S, 16S, 1 ^{ra} , 2 ^{da} y 3 ^{ra} posición de ND4 y c-mos).	75
22. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud de los genes combinados, estrategia de partición 10 (12S, 16S, 1 ^{ra} , 2 ^{da} y 3 ^{ra} posición de ND4 y c-mos)...76	
23. Árbol consenso de máxima credibilidad generado en el análisis de tiempos de divergencia, con datos del gen mitocondrial ND4 (sin partición por codones).	77

LISTA DE TABLAS

1. Protocolos para la amplificación de los genes mitocondriales y el gen nuclear, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	79
2. Parámetros estimados para el análisis de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana... 80	
3. Comparación de las estrategias alternativas de partición usadas en el análisis de inferencia bayesiana.....	81
4. Estrategias de partición utilizados en el análisis de estimación de tiempos de divergencia.	82
5. Proporción de caracteres parsimónicos informativos y caracteres variables.....	83
6. Distancias genéticas corregidas (valores superiores) y no corregidas (valores inferiores) del gen mitocondrial 12S entre los siete clados y el grupo externo más cercano (<i>Ptychoglossus</i>).....	84
7. Distancias genéticas corregidas (valores superiores) y no corregidas (valores inferiores) del gen mitocondrial 16S entre los siete clados y el grupo externo más cercano (<i>Ptychoglossus</i>).....	85
8. Distancias genéticas corregidas (valores superiores) y no corregidas (valores inferiores) del gen mitocondrial ND4 entre los siete clados y el grupo externo más cercano (<i>Ptychoglossus</i>).....	86

9. Distancias genéticas corregidas (valores superiores) y no corregidas (valores inferiores) del gen nuclear c-mos entre los siete clados y el grupo externo más cercano (<i>Ptychoglossus</i>).	87
10. Resultados del análisis de delimitación de especies de cuatro especies de <i>Alopoglossus</i> , a partir de los árboles bayesianos de los genes mitocondriales ribosomales 12S y 16S, y el gen mitocondrial codificante de proteínas ND4.	88

LISTA DE ANEXOS

1. Nombre de las especies de <i>Alopoglossus</i> , números de colección y localidades de las muestras de tejido analizadas en el siguiente estudio.....	90
2. Nombre de las especies, números de colección y localidades de las secuencias disponibles en Genbank	95

1. RESUMEN

Las lagartijas del género *Alopoglossus* son gimnoftálmidos de tamaño pequeño que habitan en la hojarasca del bosque, están ampliamente distribuidas en la parte norte de Sudamérica. En el Ecuador, existen cinco especies formalmente descritas (*A. angulatus*, *A. buckleyi*, *A. atriventris*, *A. copii* y *A. festae*). Se estimaron las relaciones filogenéticas del género *Alopoglossus* en base regiones de genes mitocondriales (12S, 16S, ND4) y un gen nuclear (c-mos) con los métodos de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana en diferentes estrategias de partición. Además, se evaluó la monofilia y la ubicación del género entre los clados mayores de la familia Gymnophthalmidae. Se obtuvo un alto soporte para la monofilia del género, pero las relaciones entre los siete clados mayores inferidos (*A. angulatus*, *A. atriventris* subclado 1, *A. atriventris* subclado 2, *A. buckleyi*, *A. copii*, *A. festae* y *A. sp. nov*), no fue clara: el soporte en nodos basales fue bajo. Sin embargo, los análisis de delimitación de especies (GMYC, $P_{(AB)}$ y p ID) y distancias genéticas (corregidas y no corregidas) revelaron linajes con una alta divergencia genética; se identificaron 17 especies genéticas candidatas de *Alopoglossus* en el Ecuador (un 240% de incremento en la riqueza de especies) no reconocidas previamente en base a características morfológicas. Los resultados obtenidos fortalecen estudios previos acerca de la presencia de especies crípticas complejas dentro de los miembros de la familia Gymnophthalmidae.

Palabras clave: Criterio de información bayesiana, Gymnophthalmidae, estimación de máxima verosimilitud, tiempos relativos de divergencia, Filogenia.

2. ABSTRACT

Lizards of the genus *Alopoglossus* are small leaf-litter inhabiting gymnophthalmids widely distributed in northern South America. In Ecuador, *Alopoglossus* contain four formally recognized species (*A. angulatus*, *A. buckleyi*, *A. atriventris*, *A. copii* and *A. festae*) currently recognized. The phylogenetic relationships were estimated within *Alopoglossus* based on mitochondrial (12S, 16S, ND4) and nuclear (c-mos) gene regions using likelihood and Bayesian methods under different partition strategies. In addition, the monophyly and the placement of the genus among the major clades of Gymnophthalmidae was tested. A strong support for the monophyly of the genus was obtained, but the relationships among seven major clades (*A. angulatus*, *A. atriventris* subclade 1, *A. atriventris* subclade 2, *A. buckleyi*, *A. copii*, *A. festae* y *A. sp. nov*) were less clear: support for basal nodes within *Alopoglossus* was weak. Nevertheless, both species delimitation analyses (GMYC, $P_{(AB)}$ and p ID) and genetic distance (ML-corrected and p-distances) revealed highly divergent lineages, seventeen genetic candidate species were identified in Ecuador (a 240% increase in species richness) previously unrecognized based on morphological characters. This results strengthening previous studies about the presence of complex cryptic species within the members of Gymnophthalmidae.

Keywords: Bayesian information criterion, Gymnophthalmidae, maximum-likelihood estimation, phylogenetics, relative divergence time.

3. INTRODUCCIÓN

Ecuador, a pesar de tener un área pequeña (253 370 Km²), es uno de los países tropicales con mayor densidad de especies (Mittermeier *et al.*, 1997). Esto se debe a su ubicación dentro de tres de las cuatro principales regiones biogeográficas del Neotrópico: la cuenca amazónica, la región Tumbes-Chocó-Magdalena y los Andes tropicales (Dangles y Nowicki, 2010). Por ejemplo, Ecuador posee 532 especies reconocidas de anfibios, siendo el tercer país más diverso a nivel mundial (Ron *et al.*, 2013). En términos de diversidad de aves, es el cuarto país más diverso a nivel mundial, (Wiedenfled, 2006) con 1600 especies reconocidas (Dangles y Nowicki, 2010). Así también, es el octavo país con mayor diversidad de reptiles del mundo (433 especies; Torres-Carvajal y Salazar-Valenzuela, 2013). Después de las culebras (216 especies; Torres-Carvajal y Salazar-Valenzuela, 2013), las lagartijas son el segundo grupo de reptiles más diverso de Ecuador (178 especies; Torres-Carvajal y Salazar-Valenzuela, 2013). Gran parte de esta diversidad ha sido descrita en años recientes debido a la adición del estudio de las secuencias de ADN dentro de la sistemática filogenética, lo que ha permitido reordenamientos taxonómicos tales como especies resucitadas taxonómicamente, nuevos registros para el Ecuador y especies nuevas para la ciencia (Torres-Carvajal, 2011). Las especies de lagartijas en el Ecuador pertenecen a ocho clados (familias), siendo Gymnophthalmidae la segunda en diversidad (Torres-Carvajal, 2011).

3.1 HISTORIA TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Alopoglossus*

Boulenger (1885) reconoció cuatro grupos dentro de Teiidae basado en características morfológicas externas, los macroteidos (Grupo I) y los microteidos (Grupo II - IV) (Presch, 1980). El grupo I constituye el único miembro dentro de Teiidae (sensu

Presch, 1983), y se caracteriza por tener nasales anteriores no separadas por una frontonasal, extremidades bien desarrolladas y un tamaño del cuerpo de mediano a grande (Giugliano *et al.*, 2007). Posterior a la clasificación de los microteidos (término utilizado por primera vez por Ruibal, 1952) (grupos II, III, IV) por Boulenger (1885), MacLean (1974) formalmente separa macroteidos y microteidos como subfamilias de Teiidae. Actualmente los microteidos son reconocidos como una familia separada Gymnophthalmidae (Merrem, 1820) (Presch, 1983; Estes *et al.*, 1988), basado en evidencias osteológicas (Presch, 1974), morfología externa (Vanzolini y Valencia, 1965), cariotipo (Gorman, 1970), estructura del músculo aductor de la mandíbula (Rieppel, 1980), morfología del cerebro (Northcutt, 1978) y datos moleculares (Pellegrino *et al.*, 2001; Doan, 2003; Castoe *et al.*, 2004). A pesar de la aceptación de la familia Gymnophthalmidae, todavía existe una tendencia hacia la clasificación inicial de Teiidae (Harris, 1985).

La familia Gymnophthalmidae es un taxón neotropical de lagartijas de tamaño pequeño (40 - 150 mm de longitud hocico cloaca) (Pellegrino *et al.*, 2001) que incluye aproximadamente 36 géneros y 220 especies (Goicoechea *et al.*, 2012) de hábitos terrestres, arbóreos, fosoriales y semiacuáticos (Rodrigues *et al.*, 2007). Se distribuyen ampliamente en bosques subtropicales, tropicales y temperados, desde el sur de México hasta Argentina, el Caribe y algunas islas continentales de América Central y Sudamérica (Presch, 1980; Pellegrino *et al.*, 2001). Las lagartijas de la familia Gymnophthalmidae se caracterizan por tener extremidades reducidas, cuerpo alargado, pérdida de párpados en algunas especies, oídos abiertos externamente, presencia o ausencia de algunas escamas de la cabeza (Pellegrino *et al.*, 2001); sin embargo es considerado un grupo taxonómicamente problemático, principalmente a nivel de género, debido a la convergencia de varias características morfológicas relacionadas con la adaptación a hábitats especializados en

diferentes linajes, y a la falta de colecciones museológicas de varios taxones que incluyan un amplio muestreo geográfico (Pellegrino *et al.*, 2001; Doan y Castoe, 2005; Rodrigues *et al.*, 2007; Peloso *et al.*, 2011).

Boulenger (1885) también observó que algunos gimnoftálmidos presentaban pliegues en la superficie dorsal de la lengua, a diferencia de otros teidos con papilas tipo escama. Esta característica permitió la distinción de dos géneros: *Alopoglossus* (Boulenger, 1885) y *Ptychoglossus* (Boulenger, 1890). La palabra *Alopoglossus* se origina del griego alopekia = “calvicie” y glossa = “lengua”, mientras que *Ptychoglossus* proviene del griego ptyx, - ychos = “pliegues” y glossa = “lengua” (Brown, 1956; Harris, 1985, 1994). Boulenger describe al género *Alopoglossus* en 1885 para acomodar a las especies de *A. copii*, *A. buckleyi* y *A. carinicaudatus*. *A. copii* y *A. buckleyi* fueron descritos inicialmente por O’Shaughnessy (1881) como *Leposoma carinicaudatum* y *Leposoma buckleyi*, respectivamente, mientras que *A. carinicaudatus* fue descrito por primera vez por Linnaeus en 1758 como *Lacerta angulata*. Posteriormente Peracca (1904) describe *A. festae* en base a una hembra de la localidad de Vines (Provincia de Los Ríos), Ecuador. En 1924, Ruthven describe a *A. amazonius* de la localidad de Vila Murinho, Rondônia (Mato Grosso), Brasil. Brongersma (1946) describe a *A. copii surinamensis* de la localidad del río Lucie, Surinam. Ruibal (1952) sinonimiza a *A. copii surinamensis* con *A. carinicaudatus*, además describe a *A. andeanus* en base a un macho adulto de la localidad de La Pampa (Departamento de Puno), Perú, especie conocida únicamente por su holotipo (Köhler *et al.*, 2012). En 1973, Duellman describe a *A. atriventris* de la localidad de Lago Agrio (Provincia de Napo, actualmente Sucumbíos), Ecuador. Hoogmoed (1973) resucita a *Lacerta angulata* (Linnaeus, 1758) como *A. angulatus* y lo sinonimiza con *A. carinicaudatus* (Boulenger, 1885), además restablece la localidad tipo (“America”) a Surinam (Montaña Brown) a partir de un neotipo. Duellman (1978) describe a individuos

de *A. angulatus* como *A. copii* (Vitt y de la Torre, 1996). En 1984, Ayala y Harris describen *A. lehmani* en base un macho en el km 22 de la vía Buenaventura a San Isidro, en la parte baja del Río Calima (Departamento del Valle de Cauca), Colombia. Köhler *et al.* (2012) sinonimizan a *A. andeanus* con *A. angulatus* en base a características morfológicas externas y coloración.

Actualmente se reconocen seis especies de *Alopoglossus* (Köhler *et al.*, 2012), distribuidas ampliamente en la parte norte de Sudamérica, abarcando los países de Guayana Francesa, Surinam, Guyana, Brasil, Colombia, Ecuador y Perú (Ávila-Pires, 1995). En el Ecuador se han registrado cinco especies de *Alopoglossus* [*A. angulatus* (Linnaeus, 1758); *A. atriventris* (Duellman, 1973); *A. buckleyi* (O'Shaughnessy, 1881); *A. copii* (O'Shaughnessy, 1881) y *A. festae* (Peracca, 1904)] (Figura 1) distribuidas en los bosques tropicales y subtropicales del oeste (*A. festae*) y en los bosques tropicales (*A. angulatus*, *A. atriventris*, *A. buckleyi* y *A. copii*) y subtropicales (*A. buckleyi*) del este de los Andes (Torres-Carvajal, 2001).

Alopoglossus se caracteriza por tener: (1) tamaño pequeño; (2) cuerpos cilíndricos; (3) colas largas, de forma redondeada (en un plano transversal), con crestas longitudinales; (4) extremidades bien desarrolladas y pentadactilares, dígitos con garras; (5) lengua moderadamente alargada con punta en forma de flecha y placas oblicuas que convergen hacia la línea media (sin papilas tipo escamas imbricadas); (6) dientes laterales comprimidos, bi o tricúspides; (7) ausencia de occipitales; (8) nasales separadas por una frontonasal y divididas verticalmente; (9) prefrontales y frontoparietales presentes; (10) margen posterior recto del interparietal y de los parietales; (11) cuatro supraoculares; (12) cuatro o cinco supraciliares; (13) tres a cuatro suboculares, la segunda es la más larga, tres veces más larga que la primera; (14) párpados desarrollados, párpados inferiores con un disco semitransparente compuesto de varias escamas; (15) escamas de la cabeza anteriores

dorsales lisas, posteriores rugosas o con crestas laterales; (16) una postmental; (17) tres pares de escamas geneiales, margen posterior del último par redondeado; (18) oído expuesto, timpano visible; (19) escamas dorsales y laterales subiguales, largas, puntiagudas, imbricadas, arregladas en filas transversales y oblicuas; (20) escamas ventrales largas, con el margen posterior redondeado a puntiagudo, imbricadas, lisas o ligeramente quilladas, arregladas en filas longitudinales y transversales; (21) saco gular ausente y (22) collar poco diferenciado (Boulenger, 1885; Hoogmoed, 1973; Harris, 1985; Ávila-Pires, 1995).

3.2 SISTEMÁTICA MOLECULAR

La sistemática molecular utiliza marcadores genéticos para rastrear variaciones de ADN en poblaciones naturales (Allendorf y Luikart, 2007), lo que permite hacer inferencias acerca de sus relaciones filogenéticas y los procesos involucrados con los patrones de distribución geográfica de los linajes (Avice, 2000). Los datos moleculares pueden clasificarse de acuerdo a su función (estructura de ARN, codificantes o no codificantes de proteínas) y genoma (mitocondrial, nuclear) (Springer *et al.*, 2001). Los primeros estudios de sistemática molecular se realizaron en base al ADN mitocondrial (ADNm) (Schlötterer, 2004; Allendorf y Luikart, 2007), el cuál es una molécula circular simple que en los últimos treinta años ha sido ampliamente utilizada como marcador de diversidad molecular en animales (Galtier *et al.*, 2009). El ADNm es fácil de aislar ya que está presente en múltiples copias por célula y es abundante en algunos tejidos. Generalmente no existe recombinación de las moléculas de ADNm entre el linaje materno y paterno durante la producción de gametos, esto es posible ya que el ADNm se hereda de la línea materna (en algunas especies), por lo que está presente de forma haploide en los individuos (Allendorf y Luikart, 2007). Esta característica de ser una molécula no

recombinante haploide es bastante útil al momento de hacer filogenias, debido a que los genes están ligados y presentan la misma historia filogenética (teoría de la coalescencia) (Hillis *et al.*, 1996). Además presenta regiones altamente variables con tasas de sustitución relativamente altas (Galtier *et al.*, 2009).

El ARN ribosomal (ARNr) junto con las proteínas ribosomales forman los ribosomas, organelas que sintetizan las proteínas a partir del ARN mensajero (ARNm). Esta función es catalizada principalmente por el ARNr, el cuál es de interés evolutivo debido a que este proceso bioquímico es altamente conservado en todos los organismos (Hillis y Dixon, 1991; Simon *et al.*, 1994; Freeman y Herron, 2001; Smith *et al.*, 2007). La variación de los genes ribosomales se da en la secuencia de nucleótidos que la constituyen, pero no altera la estructura y función del ARN, que son altamente conservados en todos los genomas (Simon *et al.*, 1994; Smith *et al.*, 2007). Los sitios altamente conservados están relacionados con los sitios de unión de las proteínas ribosomales y el ARN de transferencia (ARNt), procesamiento del ARNm y la hélice core (Simon *et al.*, 1994). El ADNm contiene dos genes ribosomales, el 12S y el 16S, los cuales codifican los componentes de la estructura del ARN, la subunidad mitocondrial del ribosoma pequeña y grande, respectivamente. El gen 12S es altamente conservado, con una tasa de evolución similar a todo el genoma mitocondrial (Hillis *et al.*, 1996), por lo cual es utilizado comúnmente para determinar la diversidad genética de taxones de niveles superiores (e.g., filo), mientras que el gen 16S se utiliza a nivel de taxones intermedios, como género o especie (Arif y Khan, 2009). Además de los genes ribosomales de ARN para inferir las relaciones evolutivas, también se utilizan los genes mitocondriales codificantes de proteínas. Zardoya y Meyer (1996) clasificaron a los genes mitocondriales de proteínas según el nivel de resolución filogenética, siendo el grupo I (ND4, ND5, ND2, cytb y COI) el de mejor resolución. Graybeal (1994) propone el uso del gen nuclear del factor Mos de maduración del oocito

(c-mos) como marcador genético para la reconstrucción de filogenias en taxones de vertebrados, con tiempos de divergencia de 400 millones de años (Saint *et al.*, 1998; Harris *et al.*, 1999). Posteriormente Saint *et al.* (1998) y Harris *et al.* (1999) proponen su utilidad en el análisis filogenético de Squamata. C-mos es un gen de copia simple con 400 pares de bases, sin intrones y elementos repetitivos en la secuencia, además presenta regiones conservadas con pocas inserciones y deleciones (Saint *et al.*, 1998).

3.3 JUSTIFICACIÓN

A pesar de la gran cantidad de estudios taxonómicos (e.g., Boulenger, 1885; Ruibal, 1952; Peters, 1967; MacLean, 1974; Duellman, 1978; Harris, 1985; Ávila- Pires, 1995; Evans, 2008 y Köhler *et al.*, 2012), las relaciones filogenéticas dentro de este género no son claras. Presch (1980) infiere las relaciones evolutivas de 28 géneros de la familia Gymnophthalmidae en base a datos osteológicos y miológicos. Este estudio ubicó a *Alopoglossus* dentro del grupo de *Ptychoglossus*, *Proctoporus* y *Prionodactylus*. Pellegrino *et al.* (2001) realizaron una filogenia molecular de 26 géneros de la familia Gymnophthalmidae con genes mitocondriales (12S, 16S y ND4) y nucleares (18S y c-mos). *Alopoglossus* resultó ser un grupo monofilético denominado Alopoglossinae, el cual es el taxón hermano del resto de gimnoftálmidos. Castoe *et al.* (2004) reanalizaron los datos de Pellegrino *et al.* (2001), pero con únicamente cuatro de los cinco genes explorados por Pellegrino *et al.* (2001) y un número mayor no tan significativo de muestras (12 especies y un género). Sus análisis filogenéticos bayesianos infirieron a *Ptychoglossus* como mayormente relacionado a *Alopoglossus*, y no a Cercosaurini como fue inferido inicialmente por Pellegrino *et al.* (2001). Pese a los estudios mencionados, se conoce muy poco sobre las relaciones filogenéticas entre las especies del género *Alopoglossus*. Principalmente porque los estudios de Pellegrino *et al.* (2001) y Castoe *et al.* (2004)

incluyen únicamente tres (*A. angulatus*, *A. atriventris*, y *A. copii*) de las seis especies reconocidas de *Alopoglossus*. Por otro lado, estos estudios utilizaron un individuo por especie, sin abarcar un mayor muestreo de la distribución geográfica de las mismas.

En el presente estudio se infirieron las relaciones filogenéticas de las cinco especies de *Alopoglossus* registradas en el Ecuador (*A. angulatus*, *A. atriventris*, *A. buckleyi*, *A. copii* y *A. festae*), en base a los genes mitocondriales 12S, 16S y ND4, y el gen nuclear *c-mos*, con los métodos de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana.

3.4 OBJETIVOS

3.4.1 GENERAL

- Inferir las relaciones filogenéticas entre las especies del género *Alopoglossus* que habitan en Ecuador en base a secuencias de ADN.

3.4.2 ESPECÍFICOS

- Reconstruir árboles filogenéticos con muestras múltiples de secuencias de ADN de las cinco especies de *Alopoglossus* reportadas para Ecuador: *A. angulatus*, *A. atriventris*, *A. buckleyi*, *A. copii* y *A. festae*.
- Clarificar el estatus taxonómico de las especies del género *Alopoglossus* en el Ecuador en base al árbol filogenético obtenido.
- Usar la filogenia obtenida para estimar tiempos de divergencia relativos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Se utilizaron los tejidos disponibles en el banco de genoma del Museo de Zoología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (QCAZ) y en la colección de la División de Herpetología, Centro de Ornitología y Biodiversidad, Perú (CORBIDI). En total se analizaron 53 especímenes correspondientes a las cinco especies (*A. angulatus*, *A. atriventris*, *A. buckleyi*, *A. copii* y *A. festae*) del género *Alopoglossus* registradas para el Ecuador (Anexo 1; Figura 2).

4.2. EXTRACCIÓN, PCR Y SECUENCIACIÓN DE ADN

El ADN fue extraído de tejidos de hígado, músculo y cola preservados en etanol al 95% y almacenados a -80°C, siguiendo el protocolo basado en lisis por tiocianato de guanidina y precipitación con lavados de etanol, isopropanol (M. Fujita, no publicado) y acetato de sodio, con modificaciones realizadas por M. E. Ordóñez. La concentración y calidad de ADN se midió por medio del espectofotómetro NanoDrop TM 1000 v. 3.7 (Thermo Scientific). A partir de la solución stock se prepararon alícuotas de 20 ng/μl de concentración de ADN para ser usados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés “Polymerase chain reaction”). Muestras con concentraciones menores a 20 ng/μl no fueron diluidas. Se utilizó el método de PCR estándar para la amplificación de doble cadena de los genes utilizados por Pellegrino *et al.* (2001): gen mitocondrial de la subunidad pequeña del ARNr (12S), gen mitocondrial de la subunidad grande del ARNr (16S), gen mitocondrial de la subunidad 4 de la NADH-deshidrogenasa (ND4) y el gen nuclear del factor Mos de maduración del oocito (c-mos).

Las amplificaciones para una reacción en un volumen final de 25 µl consistieron: 18,25 µl de agua destilada de grado molecular (dH₂O) (Gibco®, Invitrogen), 2,5 µl de tampón de reacción 10X (Invitrogen), 1,5 µl de cloruro de magnesio (MgCl₂) 50mM (Invitrogen), 0,5 µl de deoxinucleótidos trifosfato (dNTP) 10mM (Invitrogen), 0,5 µl de cada cebador 10 µM, 0,25 µl de Taq ADN Polimerasa Platinum® 5U/µl (Invitrogen) y 1 µl de ADN. Se utilizaron distintos cebadores y protocolos para la amplificación de cada gen (Tabla 1). La amplificación de los productos de ADN fue comprobada mediante electroforesis horizontal en un gel de agarosa al 1% suspendido en tampón Tris-borato - EDTA (TBE) 0,5X a 90 V de voltaje constante por 40 minutos. El gel se tiñó con SYBR® Safe (Invitrogen) y posteriormente fue visualizado en un transiluminador de luz UV (Invitrogen). El tamaño de los productos de PCR se estimó por comparación con un marcador de peso molecular (Low DNA Mass Ladder, Invitrogen) y en base a tamaños de secuencias de las especies de *Alopoglossus* publicadas en GenBank por Pellegrino *et al.* (2001) (12S: ~398, 16S: ~528, ND4:~596, c-mos: 402). Los productos de PCR fueron purificados con ExoSap-IT (GE Healthcare), la cual utiliza enzimas hidrolíticas (Exonocluasa I y fosfatasa alcalina recombinante de camarón) para eliminar ADN foráneo de cadena simple, cebadores y dNTP no incorporados (Affymetrix Inc., 2012). Las muestras fueron enviadas al laboratorio comercial Macrogen en Seul, Corea del Sur para su secuenciamiento. Macrogen utiliza el secuenciamiento normal automático en productos de PCR como templado, con los mismos cebadores utilizados para las reacciones de PCR. La identidad de las secuencias se determinó mediante la herramienta de alineamiento de secuencias nucleotídicas Blast del Centro nacional de información sobre biotecnología (NCBI, por sus siglas en inglés “National Center for Biotechnology Information”) (NCBI, 2012). Blast utiliza un algoritmo heurístico para la búsqueda de secuencias homólogas, por

medio de la similaridad con respecto a la secuencia requerida a partir de una base de datos (Bottu *et al.*, 2009).

A partir de los datos de las secuencias de ambos cebadores, se obtuvo una secuencia consenso a través del ensamblaje y edición de las mismas en el programa Geneious Pro v.5.6.3 (Biomatters, 2005-2012). Las secuencias de los genes mitocondriales y el gen nuclear fueron alineadas en la interfase de Geneious Pro con el programa MAFFT, se utilizaron todos los parámetros predeterminados a excepción de la selección del algoritmo (FFT-NS-i x 1000) (Kato y Toh, 2010). El método de refinamiento iterativo de MAFFT es considerado el más exacto y rápido al momento de alinear múltiples secuencias (Nuin *et al.*, 2006). MAFFT genera un alineamiento múltiple de secuencias con el método de alineamiento progresivo, posteriormente el proceso iterativo divide el alineamiento en dos grupos que son realineados mediante el algoritmo de alineamiento aproximado grupo-a-grupo. El alineamiento generado reemplaza el anterior si este tiene un valor ponderado de suma de pares (WSP, por sus siglas en inglés “Weighted sum-of-pairs”) mayor. Este proceso se repite hasta que no haya más mejoras que hacer (Kato y Toh, 2008). Las secuencias de los genes codificantes para proteínas (ND4 y c-mos) fueron traducidas a aminoácidos en Geneious Pro para la confirmación del alineamiento.

4.3 ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

Los análisis filogenéticos se realizaron en base a los criterios de máxima verosimilitud (MV) e inferencia bayesiana (IB). No se consideró el análisis bajo el criterio parsimónico debido a que está basado en asunciones implícitas, que impiden la incorporación de información acerca de la tasa de sustitución nucleotídica y reemplazamiento de aminoácidos a lo largo de las ramas de un árbol filogenético, además

del problema de atracción de ramas largas en sitios con sustituciones múltiples (Yang y Rannala, 2012).

Se obtuvieron secuencias de GenBank de los cuatro genes de tres especies de *Alopoglossus* (Pellegrino *et al.*, 2001) como grupo interno, 27 especies de gimnofálidos como grupos externos (Castoe *et al.*, 2004; Peloso *et al.*, 2011; Pellegrino *et al.*, 2001; Rodrigues *et al.*, 2007) y dos grupos externos para la familia (*Cnemidophorus ocellifer* y *Kentropyx calcarata*; Pellegrino *et al.*, 2001) (Anexo 2). Se realizaron análisis separados para las siguientes estrategias de partición: (1) gen 12S, (2) gen 16S, (3) gen ND4, (4) primera, segunda y tercera posición de los codones del gen ND4, (5) gen c-mos (ADNn), (6) primera, segunda y tercera posición de los codones del gen c-mos, (7) combinación de los genes mitocondriales (ADNmt), sin partición en codones del gen ND4, (8) combinación de los genes mitocondriales (ADNmt), con partición en codones del gen ND4, (9) ADNmt + ADNn, sin partición en codones de los genes ND4 y c-mos, (10) ADNmt + ADNn, con partición en codones de ND4 y c-mos. Para constatar la monofilia de *Alopoglossus* se utilizó a todos los 29 grupos externos en el análisis de MV e IB en las cuatro estrategias de partición con datos combinados (7, 8, 9 y 10), posteriormente después de probar su monofilia, se utilizaron únicamente a seis taxones como grupos externos en el análisis de los genes individuales: *Ptychoglossus* (Alopoglossinae), *Rhachisaurus* (Rhachisaurinae), *Arthrosaura*, *Colobosauroides*, *Eupleopus* y *Leposoma* (Cercosaurinae, Eupleopodini). Los modelos de sustitución de nucleótidos para cada partición se obtuvieron con el programa jModelTest v2 (Darriba *et al.*, 2012) en base al criterio de información Bayesiana (BIC, por sus siglas en inglés “Bayesian Information Criterion”) (Schwarz, 1978) (Tabla 2). BIC ha sido sugerido como el criterio más exacto y preciso (Luo *et al.* 2010). El modelo fue seleccionado a partir de 1 064 modelos presentes en la versión 2 de jModelTest, bajo la búsqueda heurística del algoritmo de filtración basado en

similitud entre las estimaciones del parámetro. Este algoritmo busca el mejor modelo sin la necesidad de evaluar cada uno, descarta modelos en base a las tasas de estimación de máxima verosimilitud, frecuencia de bases y valores de p -inv y α de la tasa de variación entre sitios (Darriba *et al.*, 2012).

4.3.1 MÁXIMA VEROSIMILITUD

Los árboles de máxima verosimilitud (MV) fueron estimados con el programa GARLI v2.0 (Zwickl, 2006). GARLI utiliza un algoritmo genético que encuentra la topología del árbol, largo de las ramas, y los parámetros del modelo maximizando simultáneamente el valor de verosimilitud (McCormack *et al.*, 2008). Las búsquedas empezaron a partir del árbol generado por GARLI con el algoritmo aproximado de adición paso a paso de MV. Se corrieron 50 análisis independientes para encontrar consistencia en los valores de verosimilitud usando el modelo seleccionado en jModelTest bajo el criterio BIC, pero con los valores de los parámetros estimados a partir de los datos. El soporte para cada nodo se evaluó con la técnica de bootstrap no paramétrico (Felsenstein, 1985), con 200 réplicas de bootstrap para cada gen y para los datos combinados, bajo los mismos parámetros usados durante la búsqueda del árbol. La técnica de bootstrap genera a partir de los datos originales muestras con reemplazamiento aleatorio de los datos (pseudo-réplicas) con el mismo tamaño de las secuencias. Se consideraron clados con buen soporte aquellos que estuvieron representados en un 70% de los árboles (Zharkikh y Li, 1974). El árbol consenso se generó a partir de los árboles de bootstrap con la regla mayoritaria del 50% (clados presentes en más del 50% de los árboles de bootstrap) en Mesquite v 2.75 (Maddison y Maddison, 2011).

4.3.2 INFERENCIA BAYESIANA

Los árboles de inferencia bayesiana se realizaron con el programa MrBayes v3.2.1 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003), el cuál calcula las probabilidades posteriores bayesianas

con el método Metropolis-coupled en las cadenas Markov Monte-Carlo (MC-MCMC, por sus siglas en inglés). Se desligaron los parámetros en los datos con particiones (4, 6, 7, 8, 9 y 10) a excepción de la topología y el largo de las ramas, además se estableció que las tasas entre particiones sean variables (prset ratepr = variable) siguiendo la probabilidad previa flat Dirichlet. Se corrieron cuatro análisis independientes de 10^7 generaciones en cuatro cadenas Markov con valores de temperatura predeterminados. Los árboles se muestrearon cada 1 000 generaciones, con un total de 10 000 árboles por análisis. La estacionalidad se confirmó de tres maneras: visualización de los valores de probabilidad ($-\ln L$) por generación en el programa Tracer v1.5 (Rambaut y Drummond, 2009), el promedio de la desviación estándar de la división de frecuencias entre cadenas, y el factor de reducción de escala potencial (PRSF, por sus siglas en inglés “Potencial scale reduction factor”) de todos los parámetros estimados para las cuatro corridas combinadas. El promedio de la desviación estándar de la división de frecuencias de las cuatro cadenas convergentes se espera que se aproxime a cero, mientras que el PRSF debe aproximarse a uno al momento de la convergencia de las corridas. Se descartó el 10% de los árboles muestreados como burn-in. Los 36 000 árboles restantes fueron combinados para calcular las probabilidades posteriores (distribución posterior en el espacio de parámetros del modelo, dado los datos y distribución posterior previa; Holder y Lewis, 2003) en un árbol consenso obtenido por medio de la regla mayoritaria del 50%. Nodos con probabilidades posteriores (PP) mayores a 95% fueron considerados con alto soporte, pero se tuvo precaución con problemas de sobreestimación de confianza en nodos internos cortos con valores altos de probabilidad posterior y valores de bootstrap bajos (Alfaro *et al.*, 2003; Erixon *et al.*, 2003).

La mejor partición se determinó con el análisis de los factores de Bayes (FB) (Kass y Raftery 1995), con dos estrategias de partición para los datos combinados: *a* (12S, 16S, 1ND4, 2ND4, 3ND4, 1c-mos, 2c-mos y 3c-mos) y *b* (12S, 16S, ND4 y c-mos). Los FB se

definen como el ratio de las probabilidades marginales de la partición *a* con respecto a la partición *b* (Brandley *et al.*, 2005). Las probabilidades marginales fueron estimadas a partir de la media armónica de las probabilidades muestreadas de la distribución posterior, obtenidas en el análisis de las cadenas MC-MCMC. Los parámetros muestreados de los cuatro análisis independientes de MC-MCMC fueron combinados con el programa Log-Combiner v.1.7.4. disponible con el programa BEAST v.1.7.4 (Drummond *et al.*, 2012). Los FB se calcularon en Tracer con el criterio 2Ln-FB, usando la media armónica de las probabilidades de los árboles muestreados post burn-in; se evaluó el error estándar con 1 000 réplicas de bootstrap. Los resultados se interpretaron en base a los términos de Kass y Raftery (1995) (Tabla 3), un $BF \geq 10$ fue considerado como evidencia de un alto soporte de la estrategia de partición *a* con respecto a la de *b*. El árbol consenso fue editado en Fig Tree v1.3.1 (Rambaut y Drummond, 2010).

4.4 ESTIMACIÓN DE TIEMPOS DE DIVERGENCIA

El tiempo relativo de divergencia de los linajes se estimó con el método Bayesiano de filogenias relajadas en BEAST v.1.7.4. El análisis utiliza un modelo que asume que las tasas de sustitución no están correlacionadas entre ramas, y que la tasa para cada rama se ajusta independientemente a una distribución normal (Drummond *et al.*, 2006; Torres-Carvajal y de Queiroz, 2009). Se utilizó el modelo UCLN (por sus siglas en inglés “Uncorrelated lognormal relaxed-clock”) para estimar las tasas de sustitución, y el proceso de especiación Yule para el largo de las ramas, como parámetro para la tasa de nacimiento de nuevos linajes, con una tasa constante de especiación por linaje (Drummond y Rambaut, 2009). Al no tener información acerca de la tasa de evolución de la regiones de los genes utilizados y/o la edad de algunos de los nodos internos, se estableció la tasa de evolución a 1.0 en el parámetro “ucln.mean” (promedio de la tasa de las ramas bajo el modelo UCLN).

Las corridas se iniciaron en árboles al azar. Inicialmente se realizaron varias corridas en BEAST v1.7.4 con diferentes estrategias de partición y número de taxones (Tabla 4); se confirmó una buena ejecución de las cadenas Metropolis-Hasting MCMC en Tracer v1.5. Posteriormente, se escogió la estrategia de partición 3 (gen ND4 sin partición en codones), debido a que los valores del tamaño efectivo de la muestra en todos los parámetros fueron mayores a 500 (Drummond y Rambaut, 2009), a diferencia del resto de estrategias analizadas (Tabla 4). Finalmente, el archivo .xml generado en BEAUti 1.7.4 (Drummond *et al.*, 2012) con la estrategia de partición 3, se corrió una sola vez con 30^7 de generaciones, con un muestreo de cada 1 000 generaciones y un 10% de burn-in. El archivo generado (Log) fue analizado en Tracer v1.5, para confirmar la convergencia, el tamaño efectivo de la muestra (ESS, por sus siglas en inglés “Effective sample size”), y para calcular el promedio y el 95 % del intervalo de densidad posterior mayor (HPD, por sus siglas en inglés “Highest posterior density”) para los tiempos de divergencia. El 95% HPD representa el menor intervalo que contiene 95% de los valores de las muestras de las probabilidades posteriores (Drummond y Rambaut, 2009). Se generó un árbol consenso (Maximun clade credibility tree (MCCT)) a partir de 27 000 árboles con el programa TreeAnnotator v1.7.4. El árbol generado es el árbol con la máxima sumatoria del promedio de los tiempos de divergencia de los nodos (HPD 95%), probabilidades posteriores y el promedio de la tasa de evolución de cada rama (Drummond y Rambaut, 2009). El árbol fue editado en Fig Tree v1.3.1.

En base a los valores obtenidos para el parámetro ucl.d.stdev, se realizó otro análisis bajo un modelo de reloj molecular estricto, el cual asume una misma tasa de evolución constante sobre el tiempo en los linajes de un árbol filogenético (Drummond *et al.*, 2007). Se hicieron dos corridas con 10^6 millones de generaciones cada una, un muestreo cada 1 000 generaciones y 10% de burn-in.

4.5 DISTANCIAS GENÉTICAS Y DELIMITACIÓN DE ESPECIES

Las distancias genéticas corregidas y no corregidas de los cuatro genes se estimaron del alineamiento, en el programa PAUP* v4.0 (Swofford, 2003). Para las distancias genéticas corregidas se utilizó el método de MV con los mismos modelos evolutivos de los análisis filogenéticos (Tabla 2).

La delimitación de especies se realizó con la herramienta “Species Delimitation” (Masters *et al.*, 2011) de Geneious Pro [métodos $P_{(AB)}$ (Rosenberg, 2007) y p ID (Ross *et al.*, 2009)] y el paquete SPLITS (por sus siglas en inglés “Species limits by threshold Statistics”) de R (<http://r-forge.r-project.org/projects/splits/>) [método GMYC (Pons *et al.*, 2006; Mohaghan *et al.*, 2009)]. $P_{(AB)}$ es la probabilidad de monofilia recíproca bajo el modelo nulo de coalescencia randómica, es decir la probabilidad de que la especie A representada por la secuencia a , en un clado de secuencias $a + b$, sea recíprocamente monofilético con respecto a la secuencia b bajo el modelo nulo de coalescencia randómica (Rosenberg, 2007; Masters *et al.*, 2011). La hipótesis nula fue rechazada cuando la probabilidad de monofilia recíproca fue menor que el nivel de significación de α ($P < 10^{-5}$) (Rosenberg, 2007). p ID es la probabilidad media, con un 95% de intervalo de confianza, de que una especie putativa esté dentro (p ID Estricto), o sea hermana (p ID Liberal) de las especies del clado en un árbol (Masters *et al.*, 2011). El tamaño de muestra mínimo requerido para el cálculo de ambas probabilidades fue de 10 secuencias entre las especies A y B, con un número mínimo de cinco secuencias por especie (Rosenberg, 2007; Ross *et al.*, 2009; Baker *et al.*, 2009). Los clados correspondientes a las especies de *Alopoglossus copii* y *A. sp. nov* fueron omitidos para el cálculo de $P_{(AB)}$ e p ID (Estricto y Liberal), debido al insuficiente número de secuencias por clado, 4 y 2, respectivamente. $P_{(AB)}$ y p ID se calcularon a partir de los árboles bayesianos de los genes individuales (excepto para *c-* mos por su poca resolución para resolver las relaciones interespecíficas de las especies de

Alopoglossus), para determinar qué topología soportaría o rechazaría las relaciones monofiléticas respectivas (Kubatko *et al.*, 2011). GMYC (por sus siglas en inglés “General mixed Yule-coalescent”), delimita especies con la estadística de máxima verosimilitud a partir de un árbol ultramétrico (e.g., con tiempos relativos de divergencia). GMYC separa linajes con tasas de evolución independientes, identificando tiempos en el árbol con patrones de transición en las ramas de un proceso de especiación (Yule) a un proceso de coalescencia, es decir utiliza la coalescencia como el modelo nulo para explicar el patrón de las ramas (Boykin *et al.*, 2012; Esselstyn *et al.*, 2012). En base a los árboles ultramétricos obtenidos con el análisis de tiempos de divergencia (modelo UCLN y reloj molecular estricto), se realizaron análisis separados con los modelos de umbral simple y múltiple, los cuales se diferencian por el número de umbrales de tiempo para la transición a diferentes linajes.

5. RESULTADOS

Se obtuvieron un total de ~2 032 pares de bases (matriz alineada) de ADN mitocondrial (12S ~470; 16S ~575; ND4 ~582) y nuclear (c-mos: ~405) de 82 individuos, de los cuales 53 estuvieron en el grupo interno (Anexos 1 y 2). El 34% de nucleótidos fueron caracteres variables, y el 30% fueron caracteres parsimónicos informativos. Los genes mitocondriales fueron más variables que el gen nuclear c-mos (Tabla 5). Los valores de los parámetros estimados de los modelos evolutivos para cada gen y posición de codón se presentan en la Tabla 2.

5.1 ANÁLISIS FILOGENÉTICOS

Los árboles inferidos en los análisis de máxima verosimilitud (MV) e inferencia bayesiana (IB) no presentaron topologías con conflictos altamente soportados en las genealogías de los genes individuales y los datos combinados. La mayor diferencia se presentó a nivel de las interrelaciones entre los clados mayores.

5.1.1 ANÁLISIS DE GENES INDIVIDUALES

Se obtuvieron valores altos de bootstrap no paramétrico (BP) y probabilidades posteriores (PP) para la monofilia de *Alopoglossus* (BP = 0.78 - 0.97; PP = 0.99 - 1.00), y su ubicación dentro de la subfamilia Alopoglossinae (BP = 0.95 - 1.00; PP = 1.00), a excepción de los análisis con las estrategias de partición 1 y 3 en MV y 1 en IB para *Alopoglossus*; 1, 2 y 3 en MV y 2 en IB para Alopoglossinae, respectivamente. Los análisis individuales para los genes mitocondriales ribosomales 12S, 16S y el gen mitocondrial y nuclear codificantes de proteínas ND4 y c-mos (con y sin partición en codones) resolvieron

clados mayores similares (*A. angulatus*, *A. atriventris*, *A. buckleyi*, *A. copii*, *A. festae* y una posible nueva especie “*A. sp. nov*”), pero difirieron en el ordenamiento de los mismos en los árboles (Figuras 3–14); nodos conflictivos no tuvieron altos soportes de BP y PP, a excepción de la ubicación de *Ptychoglossus* como grupo interno, hermano a *A. festae* en el gen 12S (BP = 0.70) (Figura 4). El número de clados mayores de *Alopoglossus* difirió en los análisis individuales de los genes (12S = 6; 16S = 8; ND4 con y sin partición en codones = 7; c-mos con y sin partición en codones = 8), debido a diferentes eventos de parafilia de la especie *Alopoglossus atriventris* en las genealogías (Figuras 3–14). Se identificaron dos subclados principales de *A. atriventris* en los genes 12S [subclado 1 = 0.93 (BP); 0.99 (PP) y subclado 2 = 0.75 (BP); 0.98 (PP)] y ND4 [estrategia de partición 3/4: subclado 1 = 1.00/1.00 (BP); 1.00/1.00 (PP) y subclado 2 = 0.79/0.75 (BP); 0.99/0.99 (PP)] (Figuras 3, 7–10). En el gen 16S se presentó únicamente el subclado 1 (BP = 0.68; PP = 0.99), mientras que en el gen 12S, los dos subclados de *A. atriventris* resultaron monofiléticos, aunque sin respaldo de valores de BP y PP. El clado de *A. copii* estuvo mayormente soportado en las seis estrategias de partición analizadas por método (BP = 0.99 - 1.00; PP = 0.99 - 1.00), seguido de *A. festae* (BP = 0.81 - 1.00; PP = 0.97 - 1.00), *A. angulatus* (BP = 0.82 - 1.00; PP = 0.99 - 1.00), *A. sp. nov* (BP = 0.72 - 0.99; PP = 0.99) y *A. buckleyi* (BP = 0.91; PP = 0.99 - 1.00).

No se obtuvo soporte para la topología obtenida en el análisis con máxima verosimilitud de Pellegrino *et al.* (2001) e inferencia bayesiana de Castoe *et al.* (2004) [genes: 12S, 16S, ND4, c-mos, 18S; modelo de evolución: GTR + Γ + I, en base al criterio de Información de Akaike (AIC)] acerca de la relación de taxón hermano de *Alopoglossus copii* + *A. angulatus* con respecto a *A. atriventris*. Sin embargo se obtuvo la misma topología, pero incluido a *A. sp. nov* en el clado de *A. angulatus*, en los análisis del gen ND4 con la estrategia de partición 4 en MV e IB (Figuras 9 y 10). Cabe mencionar que

todas las secuencias de *A. copii* obtenidas del GenBank (Anexo 2) fueron ubicadas dentro del clado de *A. angulatus* en todos los árboles obtenidos con ambas metodologías y estrategias de partición.

Las relaciones interespecíficas no se resolvieron de forma clara en los análisis de los genes individuales con ambos métodos, no obstante el gen ND4 con las estrategias de partición 3 (IB) y 4 (MV e IB), alcanzaron un alto soporte para la relación de taxón hermano entre *Alopoglossus festae* y el resto de especies de *Alopoglossus* (PP = 1.00/BP = 0.79; PP = 1.00), y para la monofilia recíproca de *A. angulatus* con respecto a *A. sp. nov* (BP = 0.73/PP = 0.99; BP = 0.75/ PP = 0.99) (Figuras 7, 9 y 10). El gen c-mos con ambas estrategias de partición (5 y 6) resultó menos informativo al momento de resolver las relaciones intra e interespecíficas, con varios eventos de politomía en clados y subclados (Figuras 11–14).

5.1.2 ANÁLISIS DE DATOS COMBINADOS

5.1.2.1 RELACIONES DENTRO DE LA FAMILIA GYMNOPHTHALMIDAE

Se incluyeron 27 géneros de la familia Gymnophthalmidae pertenecientes a cuatro subfamilias, incluyendo cuatro tribus: Alopoglossinae, Gymnophthalminae (Heterodactylini; Gymnophthalmini), Rhachisaurinae y Cercosaurinae (Ecpleopodini; Cercosaurini) (Pellegrino *et al.*, 2001; Castoe *et al.*, 2004; Rodrigues *et al.*, 2005; Rodrigues *et al.*, 2007) (Figuras 15–22). Los ocho árboles obtenidos de los análisis con MV e IB con las cuatro estrategias de partición fueron generalmente incongruentes entre sí. Dentro de las relaciones entre las subfamilias y tribus de Gymnophthalmidae, la relación de taxón hermano entre Rhachisaurinae y Gymnophthalminae, tuvo un buen soporte (BP = 0.72 - 0.84; PP = 0.99), seguido de la ubicación de *Bachia* (Cercosaurini) como taxón basal de este clado (BP = 0.81; PP = 0.97).

La monofilia de Gymnophthalminae tuvo un alto soporte en las cuatro estrategias de partición (BP = 0.94 - 1.00; PP = 1.00), incluidas sus dos tribus Heterodactylini (BP = 0.98 - 0.99; PP = 0.99, excepto en las estrategias de partición 9 y 10: PP = 0.60/0.67) y Gymnophthalmini (BP = 0.98 - 1.00; PP = 1.00). Heterodactylini presentó dos topologías diferentes altamente soportadas: 1 (estrategias de partición 7, 8, y 10: BP = 0.98; PP = 0.99/BP = 0.99; PP = 0.99/BP = 1.00) (Figuras 15–18 y 22) y 2 (estrategia de partición 9: BP = 1.00) (Figura 20). Gymnophthalmini presentó tres topologías diferentes altamente soportadas: 1 (estrategias de partición 7, 8, y 9: BP = 0.99; PP = 1.00/BP = 0.98; PP = 1.00/PP = 1.00) (Figuras 15–19), 2 (estrategias de partición 9 y 10: BP = 1.00/1.00) (Figuras 20 y 22) y 3 (estrategia de partición 10: PP = 1.00) (Figura 21). Las relaciones intraespecíficas de Heterodactylini se resolvieron de forma clara en las topologías 1 y 2, con valores altos de BP (0.97 - 1.00/1.00) y PP (0.99 - 1.00). Dentro de Gymnophthalmini, los agregados mayormente soportados entre los cuatro análisis fueron: *Nothobachia* + *Calypotommatus* (BP = 0.93 - 1.00; PP = 1.00) y *Procellosaurinus* + *Tretioscincus* (BP = 0.72 - 0.81; PP = 0.98).

Cercosaurinae resultó parafilético, con un alto soporte de las tribus Ecpleopodini (BP = 0.81 - 0.91; PP = 0.99 - 1.00) y Cercosaurini (BP = 0.77 - 0.88; PP = 0.99 - 1.00; excepto en las estrategias de partición 9 y 10: BP = 0.63/0.68). *Marinussaurus* y *Arthrosaura* fueron inferidos con una rama larga (en todas las estrategias de partición) y ubicados como grupos hermanos del agregado *Ecpleopus* + (*Colobasuroides* + *Leposoma*), en las estrategias de partición 7 y 8 (BP = 0.85 - 0.87; PP = 0.99 - 1.00) (Figuras 15–18) y 9 y 10 (BP = 0.90 - 0.91; PP = 1.00) (Figuras 19–22), respectivamente.

5.1.2.2 RELACIONES ENTRE LAS ESPECIES DEL GÉNERO *Alopoglossus*

Los resultados fueron congruentes con los análisis de genes individuales acerca de la monofilia de *Alopoglossus*, con valores altos de BP y PP en las cuatro estrategias de partición con datos combinados (BP = 1.00; PP = 1.00) (Figuras 15–22). La monofilia de Alopoglossinae (e.g., *Alopoglossus*, *Ptychoglossus*) tuvo un alto soporte en las estrategias de partición 9 y 10 (BP = 1.00; PP = 1.00). En las estrategias de partición 7 (IB) y 8 (MV e IB) hubo un alto soporte (PP = 1.00/BP = 0.98; PP = 1.00) para la topología de Alopoglossinae, pero incluido *Neusticurus* (*Alopoglossus* + (*Ptychoglossus* + *Neusticurus*)), con un alto soporte de valores de PP (0.99) para la relación de taxón hermano entre *Neusticurus* con *Ptychoglossus*, en la estrategia de partición 8. Inicialmente, en el análisis de IB, se determinó qué partición con datos de ADNm y ADNn (estrategias de partición 9 y 10) era la mejor en base a los Factores de Bayes (FB), a pesar de que la estrategia de partición 10 tuvo un alto valor de probabilidad marginal con respecto a la estrategia de partición 9 (Tabla 3), ambas estrategias no presentaron diferencias en las topologías y valores de PP en el grupo interno (Figuras 19 y 21).

Hubo total concordancia genealógica acerca de la identidad y distinción de los siete clados mayores obtenidos en los análisis de los genes individuales, es decir la monofilia de los mismos se confirmó con altos valores de BP y PP en cada análisis combinado con diferente partición: *Alopoglossus angulatus* (BP = 1.00; PP = 1.00), *A. atriventris* subclado 1 (BP = 1.00; PP = 1.00), *A. atriventris* subclado 2 (BP = 0.96 - 0.99; PP = 1.00), *A. buckleyi* (BP = 0.99 - 1.00; PP = 1.00), *A. copii* (BP = 1.00; PP = 1.00), *A. festae* (BP = 0.99 - 1.00; PP = 1.00) y *A. sp. nov* (BP = 1.00; PP = 1.00) (Figuras 15–22).

Las relaciones interespecíficas coincidieron con las del análisis del gen ND4 con la estrategia de partición 3 [(*A. festae* + ((*A. atriventris* subclado 1 + (*A. copii* + (*A. sp. nov* + *A. angulatus*))) + (*A. buckleyi* + *A. atriventris* subclado 2)))]], excepto en la estrategia de partición 7 con MV e IB, en los cuales difirieron las relaciones entre el clado [(*A.*

atriventrís subclado 1 + (*A. copii* + (*A. sp. nov* + *A. angulatus*)))] con los clados de *A. buckleyi* y *A. atriventrís*; no hubo soporte para ninguna de estas topologías en ninguna de las cuatro estrategias de partición con ambos métodos filogenéticos. Únicamente, al igual que en los análisis con genes individuales, hubo soporte para la relación de taxón hermano entre *Alopoglossus festae* y el resto de especies de *Alopoglossus* (BP = 0.99 - 1.00; PP = 1.00), y a la monofilia recíproca de *A. angulatus* con respecto a *A. sp. nov* (estrategia de partición 7, 8, 9 y 10: BP = 0.71; PP = 0.99/BP = 0.80; PP = 0.99/PP = 0.99/PP = 0.99).

5.2 ESTIMACIÓN DE TIEMPOS DE DIVERGENCIA

Bajo el análisis filogenético “relajado”, los valores del tamaño efectivo de la muestra (ESS) para cada parámetro con el gen ND4 sin partición fueron mayores a 500. Los valores del tamaño efectivo de la muestra (ESS) para cada parámetro con el gen ND4 sin partición fueron mayores a 500. Los valores de ESS, específicamente el del parámetro prior (ESS (prior)) tuvo valores muy bajos (< 100) en los datos combinados de ADNmt y ADNn con diferentes estrategias de partición y modelos (Tabla 4), lo que indica que se necesita correr el análisis de MC-MCMC por más tiempo. Por ejemplo al tener un valor de ESS (prior) de 29 en los datos combinados con 23 taxa (Tabla 4), sugiere que el análisis debe correrse al menos cuatro veces más para alcanzar valores superiores a 100 (Drummond y Rambaut, 2009). La convergencia del gen ND4 sin partición se alcanzó después de 10^6 de generaciones. El árbol MCCT con los intervalos de densidad posterior mayor (HPD) del 95% para la edad de cada nodo y los valores de probabilidad posterior mayores a 0.95 se muestran en la Figura 23. A continuación se reporta el promedio (y 95% HPD) de los parámetros estimados en el análisis de BEAST. El promedio del número de nuevos linajes a partir de un linaje parental por sustitución y por sitio (yule.birthRate) fue de 12.8 (8.8299-17.0014). El error estándar del parámetro ucl.d.mean (ucl.d.stdev) fue de

0.232 (0.0004-0.4789). Este valor al estar próximo a cero indicó que no hubo heterogeneidad en las ramas de los linajes, esto también se evidencia con el valor de 0.233 (0.0005-0.4923) en el parámetro “coeficiente de variación”, lo que sugiere que los datos pueden ajustarse mejor bajo un reloj molecular estricto (Drummond y Rambaut, 2009). Se obtuvo un valor de 0.004 (-0.1811-0.1876) en el parámetro “covariancia”, el cuál mide el grado de autocorrelación de las tasas de evolución entre los linajes paternos e hijos. Esto indicó que no hubo una evidencia significativa de autocorrelación en las tasas de sustitución en el árbol, es decir las ramas hijas tienen tasas diferentes a las ramas paternales (Drummond y Rambaut, 2009).

El árbol obtenido bajo el análisis de reloj molecular estricto fue altamente congruente en topología y soporte con el árbol obtenido en el análisis “relajado”, a pesar de la posible alteración de los valores de PP bajo la asunción de la evolución en base a un reloj relajado (Drummond *et al.*, 2006). Se formaron los mismos siete clados mayores obtenidos con el gen ND4 y datos combinados (estrategias de partición 3 y 4 y 7 8, 9 y 10, respectivamente), con valores de probabilidades posteriores máximas de 1.00, a excepción de los clados de *Alopoglossus festae* (UCLN: PP = 0.99) y *A. buckleyi* (UCLN/reloj molecular estricto: PP = 0.99/0.99). Las relaciones entre clados en ambos árboles MCCT fueron idénticas a las obtenidas con el árbol bayesiano del gen ND4 (estrategia de partición 3), con la ubicación de *A. atriventris* subclado 1 como taxón más basal de las especies de *Alopoglossus* del este de los Andes [(*A. copii* + ((*A. sp. nov* + *A. angulatus*) + ((*A. buckleyi* + *A. atriventris* subclado 2)))]], con un alto soporte de PP (UCLN/reloj molecular estricto = 1.00/1.00). También se obtuvo soporte para las relaciones de taxón hermano entre *A. festae* con el resto de especies de *Alopoglossus* (UCLN/reloj molecular estricto: PP = 1.00/1.00), y *A. angulatus* con respecto a *A. sp. nov* (UCLN/reloj molecular estricto: PP = 0.96/0.98). Además el árbol MCCT generado con el modelo de reloj molecular estricto

fortaleció la relación como taxa hermanos entre los especímenes de *A. angulatus* de Perú (CORBIDI 8321) y Brasil (Números de GenBank AF420909) (PP = 0.96), y entre los clados de *A. buckleyi* y *A. atriventris* subclado 2 (PP = 0.97).

En ambos árboles MCCT, la diversificación de las especies del este de los Andes fue anterior a la diversificación del clado de la especie occidental *A. festae*, el cual se diversificó casi al mismo tiempo que el ancestro común más reciente de *A. sp. nov* y *A. angulatus*. El clado más reciente fue *A. copii*, seguido de *A. sp. nov*, *A. atriventris* subclado 1, *A. angulatus*, *A. atriventris* subclado 2, *A. buckleyi* y *A. festae*. El nivel de incertidumbre en los tiempos relativos de divergencia (95% HPD) fue mayor en los nodos próximos a los grupos externos (Figura 23).

5.3 DISTANCIAS GENÉTICAS Y DELIMITACIÓN DE ESPECIES

Las distancias genéticas (corregidas-MV) intraespecíficas, interespecíficas y en relación con el grupo externo más cercano (*Ptychoglossus*), fueron más variables con el gen ND4 (0-0.2; 0.13-0.45; 0.57-0.84) seguido de los genes 12S (0-0.08; 0.06-0.25; 0.26-0.37), 16S (0-0.08; 0.04-0.2; 0.42-0.59) y c-mos (0-0.02; 0-0.06; 0.11-0.14) (Tablas 6 - 9). Los clados con mayor divergencia genética intraespecífica en el gen ND4 fueron los correspondientes a las especies *Alopoglossus buckleyi* y *A. festae* (0.20/0.13; 0.20/0.13); interespecíficamente, el clado *A. festae* presentó una mayor diferenciación genética con respecto al resto de clados (0.29-0.45) (Tabla 8).

5.3.1 MÉTODOS $P_{(AB)}$ y p_{ID}

Hubo una alta evidencia para la distinción taxonómica de los clados de *Alopoglossus atriventris* grupo 1, *A. atriventris* grupo 2, *A. buckleyi* y *A. festae*, independientemente de las relaciones monofiléticas recíprocas presentes en los árboles de los genes mitocondriales bayesianos utilizados para el cálculo (Tabla 10). Además la

relación de monofilia recíproca entre *A. festae* y el resto de especies de *Alopoglossus* fue la única soportada por valores de probabilidades posteriores en las genealogías de los genes.

El valor del radio entre el promedio de la distancia entre los miembros de una especie putativa (Distancia intraespecífica) y el promedio de la distancia entre los miembros de esta especie y su especie putativa más cercana (Distancia interespecífica) fue bajo en ambos subclados de *Alopoglossus atriventris* (< 0.24) (López-López *et al.*, 2012), lo que significa que la diferenciación genética dentro de ambos subclados fue menor relativo a la diferenciación con sus clados hermanos; es decir, existió una buena separación de ambos subclados con respecto a sus clados hermanos (Masters *et al.*, 2011; López-López *et al.*, 2012). La probabilidad de que una nueva secuencia esté dentro (p ID Estricto) o sea hermana (p ID Liberal) de un clado de una especie putativa fue alta en todos los casos (< 0.70) (Tabla 10) (Boykin *et al.*, 2012).

5.3.2 MODELO MIXTO GENERALIZADO DE COALESCENCIA DE YULE

Los métodos de umbral simple y múltiple utilizados para estimar el límite entre especies a partir de los árboles MCCT generados con los modelos UCLN y reloj molecular estricto con el gen ND4 (estrategia de partición 3), tuvieron valores de prueba del radio de verosimilitud (RV) altos en relación al modelo nulo de uniformidad (coalescencia) de derivación de ramas [umbral simple (UCLN/reloj molecular estricto) = $4.174841\text{e-}07^{***}/2.988829\text{e-}06^{***}$; umbral múltiple (UCLN/reloj molecular estricto) = $3.672814\text{e-}06^{***}/7.448868\text{e-}05^{***}$]. Ambos umbrales no difirieron significativamente entre sí (UCLN/reloj molecular estricto: $X^2 = 0.576866/0.1316839$, $gl = 6/9$, $p = 0.996602/0.999999$), por consiguiente, se discuten los resultados del método de umbral múltiple al obtener un valor de RV mayor, en ambos árboles ultramétricos. El análisis GMYC, excluido los grupos externos, indicó la existencia de 23 (IC = 23-33) y 26 (IC =

28-33) entidades MV con el modelo de UCLN y reloj molecular estricto, respectivamente. El número de entidades por clados mayores reconocidos fue (UCLN/reloj molecular estricto): *Alopoglossus angulatus* = 6/5; *A. atriventris* subclado 2 = 6/7; *A. buckleyi* = 4/7; *A. festae* = 4/4; *A. atriventris* subclado 1 = 1/1; *A. copii* = 1/1 y *A. sp. nov* = 1/1 (Figura 23). En el caso de *A. angulatus*, GMYC con el modelo de reloj molecular estricto consideró al agregado (QCAZR 8915-Pastaza + (QCAZR 9144-Orellana + QCAZR 6362-Orellana)) como un solo linaje, en contraste como dos linajes independientes (1: QCAZR 8915-Pastaza; 2: QCAZR 9144-Orellana + QCAZR 6362-Orellana) con el modelo UCLN. En la especie de *A. buckleyi* GMYC con el modelo UCLN consideró los siguientes agregados como linajes independientes, en contraste con el modelo de reloj molecular estricto (resultados en paréntesis): 1: QCAZR 10653-Napo + QCAZR 9211-Morona Santiago (1: QCAZR 10653-Napo, 2: QCAZR 9211-Morona Santiago); 2: QCAZR 9001-Napo + QCAZR 9971-Pastaza + QCAZR 11104-Tungurahua + QCAZR 11105-Tungurahua + QCAZR 9986-Pastaza + QCAZR 9961-Pastaza (1:QCAZR 9001-Napo, 2: QCAZR 9971-Pastaza + QCAZR 11104-Tungurahua + QCAZR 11105-Tungurahua, 3: QCAZR 9986-Pastaza + QCAZR 9961-Pastaza). Por último en la especie de *A. atriventris* subclado 2, GMYC con el modelo UCLN consideró al agregado (CORBIDI 5518-Perú + (CORBIDI 8831-Perú + CORBIDI 8832-Perú)) como un solo linaje, a diferencia del modelo con el reloj molecular estricto como dos linajes independientes 1: CORBIDI 5518-Perú, 2: CORBIDI 8831-Perú + CORBIDI 8832-Perú.

6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La reconstrucción filogenética a partir de datos moleculares (12S, 16S, ND4 y c-mos) de las especies del género *Alopoglossus* en el Ecuador estuvo bien representada, con un amplio número de individuos por especie de diferentes localidades (excepto para *A. copii*). Lo que permitió rastrear de mejor manera eventos de especiación en nodos internos (Barraclough y Nee, 2001). Las topologías obtenidas con los diferentes métodos filogenéticos (máxima verosimilitud (MV) e inferencia bayesiana (IB)) y estrategias de partición no representan la verdadera historia evolutiva de las especies del género *Alopoglossus* en el Ecuador (Vandamme, 2009), sin embargo a diferencia de otros criterios (e.g., matriz de distancia y parsimonia) se acercan más a la “realidad” evolutiva de las especies, al incorporar modelos complejos sobre la evolución del ADN en sus análisis (Holder y Lewis, 2003). Argumentos para el uso del criterio parsimónico (MP) en la inferencia filogenética son presentados y discutidos por Farris (1983), Goloboff (2003), Kluge y Grant (2006) y Grant y Kluge (2009).

Con el fin de resolver las relaciones filogenéticas del género *Alopoglossus* en el Ecuador y de probar su monofilia, se evaluó el nivel de soporte de las filogenias, en caso de discrepancia entre las genealogías obtenidas con ambos criterios filogenéticos (MV e IB), las evaluaciones se llevaron a cabo de acuerdo a los valores de soporte de bootstrap no paramétrico (BP) y probabilidades posteriores (PP). En algunos casos, se presentaron nodos conflictivos con valores de soporte muy altos o muy bajos, en esos casos los nodos se consideraron como no resueltos. Se tuvo precaución con la posible sobreestimación de los valores de PP en (1) nodos internos cortos con valores bajos de BP (Lewis *et al.*, 2005), (2) modelos de evolución simples (e.g., F81) y (3) en los análisis de secuencias de genes combinados (Suzuki *et al.* 2002); además se tuvo en cuenta que los valores de BP son

difíciles de interpretar (Suzuki *et al.* 2002; Yang y Rannala, 2012) debido a que calculan la probabilidad de tener la misma topología si se añaden más secuencias, y no la probabilidad de que un árbol sea correcto (Holder y Lewis, 2003). Los valores de BP y PP fueron generalmente equivalentes en los clados genéticos putativos obtenidos en todos los árboles generados, con los diferentes genes y datos combinados; a pesar de la idea de la no correspondencia de sus valores en análisis filogenéticos (Erixon *et al.*, 2003); los valores de BP fueron ligeramente más conservativos que los valores de PP, resultado consistente con observaciones previas por Suzuki *et al.* (2002), y posteriormente corroborado estadísticamente por Cummings *et al.* (2003).

6.1 RELACIONES ENTRE *Alopoglossus* Y EL RESTO DE GIMNOFTÁLMIDOS

Las relaciones entre *Alopoglossus* y el resto de gimnoftálmidos no fueron claramente resueltas en el presente estudio. Se infirió consistentemente el clado monofilético de Alopoglossinae (*Ptychoglossus* + *Alopoglossus*) con los genes mitocondriales 12S y ND4, y el gen nuclear c-mos (sensu Castoe *et al.*, 2004). Su ubicación como taxón basal con respecto al resto de clados mayores de gimnoftálmidos no fue congruente entre topologías y análisis filogenéticos, únicamente fue soportada en el análisis bayesiano con la partición de los genes mitocondriales (estrategia de partición 8). Inicialmente ambas topologías fueron inferidas por Presch (1980), en base a 26 características morfológicas (datos osteológicos y miológicos) de 28 géneros de microteidos; *Alopoglossus* y *Ptychoglossus* formaron el grupo más basal de gimnoftálmidos (grupo I de VI), junto con *Proctoporus* y *Prionodactylus*. La primera propuesta filogenética molecular por parte de Pellegrino *et al.* (2001), relacionó a *Ptychoglossus* con Cercosaurini, sin embargo sus árboles parsimónicos con las particiones de los genes nucleares 18S y c-mos, ubicaron a *Ptychoglossus* dentro de la subfamilia

Alopoglossinae. Harris (2003) obtuvo la misma topología en la reconstrucción de Squamata, en base al criterio de matriz de distancia con las mismas secuencias de c-mos de Pellegrino *et al.* (2001). Castoe *et al.* (2004) aceptaron formalmente esta hipótesis, al incorporar nuevas secuencias para los genes 12S, 16S, ND4 y c-mos de *Ptychoglossus brevifrontalis* (Números de GenBank AY507865, AY507884, AY507895 y AY507911), además de la identificación de un error por parte de Pellegrino *et al.* (2001), al haber intercambiado los nombres de las secuencias de los genes 12S y 16S de *P. brevifrontalis* por *Neusticurus juruazensis* (Anexo 2); esto explica la ubicación de *N. juruazensis* como dentro de o hermano a Alopoglossinae en las genealogías de datos combinados del presente estudio. Morfológicamente Alopoglossinae puede distinguirse, por la presencia de pliegues en casi toda la superficie dorsal de la lengua (sinapomorfía), a diferencia del resto de microteidos.

La monofilia de Ecpleopodinae (*Arthrosaura*, *Colobosauroides*, *Ecpleopus*, *Leposoma*, *Marinussaurus*) y su no relación con respecto a Cercosaurinae (*Cercosaura*, *Pantodactylus*, *Pholidobolus*, *Placosoma*, *Prionodactylus*, *Proctoporus*) fueron congruentes de acuerdo con Castoe *et al.* (2004) y Doan y Castoe (2005). Este clado fue inicialmente reportado por Pellegrino *et al.* (2001) como tribu de la subfamilia Cercosaurinae (Ecpleopodini, escrito erróneamente como “Ecpleopini”, ver detalles en Rodrigues *et al.*, 2009). Castoe *et al.* (2004) obtuvieron un clado distintamente relacionado a Cercosaurini, por lo cual sugirieron el cambio al nivel taxonómico mayor de subfamilia, Ecpleopodinae (escrito erróneamente como “Ecpleopinae”, ver detalles en Rodrigues *et al.*, 2009). Rodrigues *et al.* (2005) reanalizaron los datos de Pellegrino *et al.* (2001), más la adición de datos morfológicos en los análisis filogenéticos. Ellos concuerdan con el status de Ecpleopodinae de acuerdo a Castoe *et al.* (2004), sin embargo sugieren que el status de tribu para ambos clados es más apropiado, según la similitud de algunos caracteres

morfológicos (e.g., forma del postorbital y su contacto con el postfrontal, y la forma de la interclavícula). El clado (*Arthrosaura* + (*Ecpleopus* + (*Colobosauroides* + (*Leposoma* + *Marinussaurus*)))) inferido con altos valores de BP y PP en los datos combinados (estrategias de partición 9 y 10), no coincidió con estudios previos. Únicamente coincidió la relación como taxón cercanamente relacionado de *Ecpleopus* con respecto a *Colobosauroides*, *Leposoma* y *Marinussaurus* (Pellegrino *et al.*, 2001; Castoe *et al.*, 2004; Rodrigues *et al.*, 2005; Peloso *et al.*, 2011); la ubicación de *Arthrosaura* como taxón más basal también fue inferida previamente en los análisis de MP y MV con las particiones de los genes mitocondriales y nucleares en el estudio de Pellegrino *et al.* (2001) y en el análisis de MP con datos morfológicos y moleculares de Peloso *et al.* (2011).

La monofilia de Heterodactylini (*Heterodactylus*, *Iphisa*, *Colobodactylus*, *Colobosaura* y *Stenolepis*) y Gymnophthalmini (*Calyptommatus*, *Gymnophthalmus*, *Micrablepharus*, *Nothobachia*, *Procellosaurinus*, *Psilophthalmus* y *Tretioscincus*), así como su relación como taxones hermanos (Gymnophthalminae) fueron reforzadas de acuerdo a Pellegrino *et al.* (2001) y Rodrigues *et al.* (2005, 2007, 2009); a diferencia de análisis moleculares bayesianos previos donde Heterodactylini es parafilético con respecto a Gymnophthalmini (Castoe *et al.*, 2004; Rodrigues *et al.*, 2007, 2009). Además, a pesar del alto soporte por ambos valores de BP y PP para el agregado (*Iphisa* + (*Stenolepis* + *Colobosaura*)) no se reconoció a la tribu Iphissini (sensu Rodrigues *et al.* 2009), debido a que no se incluyeron todos los taxones dentro este clado putativo (*Acratosaura* y *Alexandresaurus*).

Bachia, *Rhachisaurus* y Gymnophthalminae formaron un clado en todas las estrategias de partición con ambos métodos filogenéticos. Al igual que la reconstrucción de máxima verosimilitud de Pellegrino *et al.* (2001), pero a diferencia del presente estudio, la tribu Heterodactylini fue parafilética, y *Bachia* estuvo más relacionada con *Neusticurus*,

Placosoma, *Pholidobolus*, *Pantodactylus*, *Cercosaura* y *Prionodactylus*. Castoe *et al.* (2004) infirieron un clado igual al de Pellegrino *et al.* (2001), aunque Cercosaurini fue hermano a Gymnophthalminae. Rodrigues *et al.* (2007) también infieren la relación entre *Bachia* y *Rhachisaurus* (pero incluido *Cercosaura*), sin embargo es dudosa debido a la inclusión de características sujetas a convergencia en los análisis parsimónicos de datos morfológicos y moleculares combinados.

El presente estudio fue diseñado para probar la monofilia de *Alopoglossus* y su ubicación dentro de los clados mayores de Gymnophthalmidae, no para resolver las incongruencias anteriormente mencionadas, para lo cual es necesario la inclusión de datos moleculares de múltiples marcadores diagnósticos nucleares de todos o casi todos los géneros reconocidos dentro de esta familia; inclusive para poder detectar fenómenos evolutivos como introgresión, estructura poblacional y flujo genético parcial influenciado por el sexo (Dupuis *et al.*, 2012).

6.2 RELACIONES FILOGENÉTICAS DENTRO DE *Alopoglossus*

La filogenia del género *Alopoglossus* en el Ecuador contiene siete clados bien definidos (*A. angulatus*, *A. atriventris* subclado 1, *A. atriventris* subclado 2, *A. buckleyi*, *A. copii*, *A. festae* y *A. sp. nov.*), inferidos de genes mitocondriales, de un gen nuclear y la combinación de los mismos (Figuras 3–22). Aquellos clados inferidos con los genes mitocondriales y el gen nuclear fueron congruentes, excepto por los subclados 1 y 2 de *A. atriventris*, una especie que presentó diferentes eventos de parafilia en las genealogías. En las topologías de datos combinados (estrategías de particiones 7 - 10; Figuras 15–22) los conflictos aparentemente pueden explicarse en base a la contribución de información filogenética de los genes utilizados. Por ejemplo, los genes mitocondriales ribosomales (12S y 16S) y el gen nuclear (c-mos) aportaron con la menor información filogenética;

presentaron el menor número de caracteres parsimónicos informativos y caracteres variables (Tabla 5); por lo tanto, estos datos proveen de poca resolución filogenética y pueden ser engañosos especialmente en regiones de los árboles con bajos sopote (Yang, 1998). Las secuencias del gen mitocondrial ND4 presentaron mayor cantidad de caracteres informativos, además fueron más variables. La variación en genes codificantes de proteínas es alta en la tercera posición de cada codón, donde la tasa de sustitución relativa es mayor en relación a la segunda y primera posición. Sin embargo, si las tasas de sustitución son muy altas, pueden ocasionar una randomización del estado de los caracteres (Oppenheimer, 2009). En contraste con otros estudios (e.g., Sites *et al.*, 1996; Daniels *et al.*, 2007) ND4 no resolvió de forma clara las relaciones más basales de las topologías. El nivel de incertidumbre (e.g., politomías) en las relaciones intraespecíficas e interespecíficas en el gen c-mos fue alta, con tres o más clados mayores de *Alopoglossus* divergiendo de un ancestro en común (Figuras 11–14), sin solución sobre la diversificación de los linajes. Los genes nucleares evolucionan lentamente en comparación con los genes mitocondriales, por lo cual tienen una menor probabilidad de coincidir con la historia de especiación ya que el tamaño efectivo de su población (N_e) es cuatro veces mayor al tamaño de cualquier locus mitocondrial (McCracken y Sorenson, 2005). En otras palabras, el proceso de coalescencia es más lento para alelos de genes nucleares que para alelos en loci mitocondriales. La combinación de datos con un número bajo de sitios variables e informativos (12S, 16S, c-mos) y datos con tasas mutacionales muy altas (ND4) infirieron una filogenia parcialmente resuelta; los clados resueltos se encontraron hacia las puntas de los árboles, mientras que los nodos no resueltos se presentaron en las posiciones basales de las filogenias.

6.3 DISTANCIAS GENÉTICAS Y DELIMITACIÓN DE ESPECIES

Las distancias genéticas interespecíficas (corregidas y no corregidas) alcanzaron valores generalmente del doble en relación a las distancias intraespecíficas en los genes

mitocondriales y el gen nuclear (Tabla 6 - 9). Los siete clados genéticos putativos de *Alopoglossus* estuvieron separados por más del 3% y 4% en las distancias genéticas corregidas y no corregidas, respectivamente (Tabla 6 - 9). Las dos especies más cercanamente emparentadas fueron *A. angulatus* y *A. sp. nov.*, ambas con un mínimo de 4% de divergencia en los genes mitocondriales y 2% en el gen nuclear (Tabla 6 - 9). Se consideraron distancias genéticas en los genes mitocondriales 16S y ND4 del 2.6% (no corregidas; Brown *et al.*, 2002) y 8% (corregidas; Doan y Castoe, 2003), respectivamente, como umbrales para la consideración de linajes como especies candidatas no confirmadas (UCS, por sus siglas en inglés “Unconfirmed candidate species”) (Padial *et al.*, 2010).

Las pruebas estadísticas de delimitación de especies $P_{(A-B)}$ y p_{ID} (Liberal y Estricto) soportaron la distinción filogenética de cuatro clados mayores de *Alopoglossus* (*Alopoglossus atriventris* grupo 1, *A. atriventris* grupo 2, *A. buckleyi* y *A. festae*); por lo tanto, el patrón de monofilia recíproca distinto puede ser reconocido como evidencia de ausencia de flujo génico entre clados (Hamilton *et al.*, 2011). Además, los valores altos de P_{ID} (Liberal) (> 90) (López-López *et al.*, 2012) alcanzados en los cuatro taxa pueden reflejar la utilidad de los genes utilizados para la delimitación molecular de las especies de *Alopoglossus* reconocidas en el Ecuador (Ogedengbe *et al.*, 2011).

El análisis de delimitación de especies con el modelo GMYC, en base a los modelos de reloj molecular estricto y relajado, incrementó el número de especies de *Alopoglossus* en el Ecuador en un 400% y 440%, respectivamente. Se discuten a continuación los resultados con el reloj molecular relajado debido a que fueron altamente congruentes con los umbrales de divergencia de los genes mitocondriales 16S y ND4. Por ejemplo, en el clado de *Alopoglossus festae*, GMYC separó cuatro grupos con evolución independiente (Figura 23); los cuales tuvieron distancias interespecíficas de 2.6-5.5% con el gen 16S y de 8-20% con el gen ND4, mientras que las distancias intraespecíficas

tuvieron un rango entre 0-1%, y 0-4% con el gen 16S y ND4, respectivamente. *A. atriventris* grupo 1 se reconoció como un solo linaje, sin embargo se sugiere que la secuencia de *A. atriventris* de Pellegrino *et al.* (2001) (Anexo 2), proveniente de Brasil, pueda tratarse de un linaje distinto al de Ecuador (Distancia genética interespecífica 16S/ND4: 4-5%/10-12%). Además, en el clado de *A. buckleyi*, GMYC reconoció cuatro linajes (Figura 23), sin embargo el espécimen proveniente de la Reserva Ecológica Antisana, en la provincia del Napo (QCAZR 11067) no tuvo una divergencia genética alta (1%) con respecto a su clado hermano para ser considerado como un linaje independiente (Figura 23). La detección de grupos intraespecíficos con GMYC y su concordancia con las tasas de divergencia, sugieren que se tratan de especies distintas, erróneamente delimitadas en base a caracteres morfológicos. Estudios recientes sobre diversidad y especiación de las lagartijas de la familia Gymnophthalmidae han revelado linajes ancestrales bien estructurados geográficamente, lo que sugiere la presencia de especies crípticas complejas, que desde su descripción no han podido ser identificadas debido a la convergencia de las características morfológicas utilizadas para su distinción de otros taxa (e.g., Siedschlag *et al.*, 2010; Pellegrino *et al.*, 2011; Goicoechea *et al.*, 2012; Nunes *et al.*, 2012, Sánchez-Pacheco *et al.*, 2012, Torres-Carvajal y Mafla-Endara, 2013). Por lo tanto, se sugieren 17 UCS dentro del género *Alopoglossus* en el Ecuador (excluyendo los linajes de *A. angulatus* de Perú (CORBIDI 8321) y Brasil (Número de GenBank: AF420909) y los linajes de Perú (CORBIDI 5518, 8831, 8832) y Brasil (Número de GenBank: AF420908) de *A. atriventris* subclado 1 y subclado 2, respectivamente), cuya identidad necesita ser esclarecida en base a la integración de otro tipo de evidencia, por ejemplo datos morfológicos. Además, para futuros estudios es necesario la inclusión de un mayor número de nucleótidos, secuencias, loci, y una distribución más representativa de muestras por localidades en relación con el rango geográfico de cada especie. (Camargo *et al.*, 2010).

7. LITERATURA CITADA

- Affymetrix, Inc. 2012. ExoSAP-IT®For PCR Product Clean-Up. [en línea] <http://www.affymetrix.com/estore/browse/brand/usb/product.jsp?productId=131310#1_2> [consultado septiembre 2012].
- Alfaro, M.E., Zoller, S. y Lutzoni, F. 2003. Bayes or bootstrap? A simulation study comparing the performance of Bayesian Markov chain Monte Carlo sampling and bootstrapping in assessing phylogenetic confidence. *Molecular Biology and Evolution* 20(2): 255-266.
- Allendorf, F.W. y Luikart, G. 2007. Genetic Variation in Natural Populations: DNA. En: *Conservation and the genetics of populations*. pp 63-90. Blackwell Publishing, Malden, MA.
- Arif, I.A. y Khan, H.A. 2009. Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation*, 32(1): 9-17.
- Ávila-Pires, T.C.S. 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). *Journal Zoologische Verhandelingen* 299: 1-706.
- Avice, J.C. 2000. Phylogeography: The history and formation of species. En: *The history and purview of phylogeography*. pp 1-37. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Ayala, S.C. y Harris, D.M. 1984. A New Microteiid Lizard (*Alopoglossus*) from the Pacific Rainforest of Colombia. *Herpetologica* 40(2): 154-158.
- Baker, A.J., Tavares, E.S. y Elbourne, R.F. 2009. Countering criticisms of single mitochondrial DNA gene barcoding in birds. *Molecular Ecology Resources* 9: 257-268.

- Barracclough, T.G. y Nee, S. 2001. Phylogenetics and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*. 16(7): 391-399.
- Bottu, G. 2009. Sequence databases and database searching: Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). En: *The Phylogenetic Handbook: A practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing* (P. Lemey, M. Salemi, y A.-M. Vandamme, Eds.) pp 33-54. Segunda Edición. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Boulenger, G.A. 1885. Catalogue of the lizards in the British Museum (Natural History). Segunda Edición. Trustees of the British Museum, Lóndres 2:xiii+497pp.
- Boulenger, G.A. 1890. First report on additions to the lizard collection in the British Museum (Natural History). *Proceedings of the Zoological Society of London* 1: 77-86.
- Boykin, L.M., Armstrong, K.F., Kubatko, L. y De Barro P. Species delimitation and global biosecurity. *Evolutionary Bioinformatics* 8: 1-37.
- Brandley, M.C., Schmitz, A. y Reeder, T.W. 2005. Partitioned Bayesian analyses, partition choice, and the phylogenetic relationships of scincid lizards. *Systematic Biology* 54(3): 373- 390.
- Brongersma, L.D., 1946. On an *Alopoglossus* from Surinam. *Zoologische Mededeelingen* 26: 231-236.
- Brown, R.W. 1956. *Composition of Scientific Words: A manual of methods and a lexicon of materials for the practice of logotechnics*. Smithsonian books, Washington. pp. 882.
- Brown, R.P., Suárez, N.M. y Pestano, J. 2002. The atlas mountains as a biogeographical divide in north–west Africa: evidence from mtDNA evolution in the agamid lizard *Agama impalearis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 24(2): 324-332.

- Camargo, A., Sinervo, B. y Sites, J.W., Jr. 2010. Lizards as model organisms for linking phylogeographic and speciation studies. *Molecular Ecology* 19(16): 3250-3270.
- Castoe, T.A., Doan, T.M. y Parkinson, C.L. 2004. Data partitions and complex models in Bayesian analysis: the phylogeny of gymnophthalmid lizards. *Systematic Biology* 53(3): 448-469.
- Cummings, M.P., Handley, S.A., Myers, D.S., Reed, D.L., Rokas, A. y Winka, K. 2003. Comparing bootstrap and posterior probability values in the four-taxon case. *Systematic Biology* 52(4): 477- 487.
- Dangles, O. y Nowicki, F. 2010. Biota Máxima. Ecuador Biodiverso. Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE). Institut de Recherche pour le Développement, Quito.
- Daniels, S.R., Hofmeyr, M.D., Henen, B.T. y Crandall, K.A. 2007. Living with the genetic signature of Miocene induced change: evidence from the phylogeographic structure of the endemic angulate tortoise *Chersina angulata*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45(3): 915-926.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. y Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8): 772.
- Doan, T.M. 2003. A new phylogenetic classification for the gymnophthalmid genera *Cercosaura*, *Pantodactylus* and *Prionodactylus* (Reptilia: Squamata). *Zoological Journal of the Linnean Society* 137: 101-115.
- Doan, T.M. y Castoe, T.A. 2003. Using morphological and molecular evidence to infer species boundaries within *Proctoporus bolivianus* Werner (Squamata: Gymnophthalmidae). *Herpetologica* 59: 433-450.

- Doan, T.M. y Castoe, T.A. 2005. Phylogenetic taxonomy of the Cercosaurini (Squamata: Gymnophthalmidae), with new genera for species of *Neusticurus* and *Proctoporus*. Zoological Journal Linnean Society 143: 405-416.
- Drummond, A.J. y Rambaut, A. 2009. Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. En: The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing (P. Lemey, M. Salemi y A.-M. Vandamme, Eds.) pp 564-591. Segunda Edición. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Drummond, A.J., Ho, S.Y.W., Phillips, M.J. y Rambaut, A. 2006. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. PLoS Biology 4(5): 699-710.
- Drummond, A.J., Ho, S.Y.W., Rawlence, N. y Rambaut, A. 2007. A rough guide to BEAST 1.4. Disponible en: <http://beast.bio.ed.ac.uk/>.
- Drummond, A. J., Suchard, M. A., Xie, D. y Rambaut, A. 2012. Bayesian Phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. Molecular Biology and Evolution 29(8): 1969-1973.
- Duellman, W. E. 1973. Descriptions of New Lizards from the Upper Amazon Basin. Herpetologica 3(29): 228-231.
- Dupuis, J.R., Roe, A.D. y Sperling, F.A.H. 2012. Multi-locus species delimitation in closely related animals and fungi: one markers is not enough. Molecular Ecology 21(18): 4422-4436.
- Erixon, P., Svennblad, B., Britton, T. y Oxelman, B. 2003. Reliability of Bayesian posterior probabilities and bootstrap frequencies in phylogenetics. Systematic Biology 52(5): 665-673.
- Esselstyn, J.A., Evans, B.J., Sedlock, J.L., Khan, F.A.A. y Heaney, L.R. 2012. Single-locus species delimitation: a test of the mixed Yule-coalescent model, with an empirical

- application to Philippine round-leaf bats. *Proceedings of the Royal Society of London B* 279(1743): 3678-3686.
- Estes, R., de Queiroz, K. y Gauthier, J. 1988. Phylogenetic relationships within Squamata. En: *Phylogenetic relationships of the lizard families* (R. Estes y G. Pregill, Eds.) pp 119-281. Stanford University Press, Stanford.
- Evans, S.E. 2008. The skull of lizards and tuatara. En: *Biology of the Reptilia, Vol.20, Morphology H: the skull of Lepidosauria* (C. Gans, A.S. Gaunt y K. Adler, Eds.). Ithica, New York, Society for the study of Amphibians and Reptiles.
- Farris, J.S. 1983. The logical basis of phylogenetic analysis. En: *Advances in Cladistic II* (N. I. Platnick y V. A. Funk, Eds.) pp. 7-36. Columbia University Press, New York.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39(4): 783-791.
- Freeman, S. y Herron, J. C. 2001. The origins of life, and Precambrian evolution. En: *Evolutionary Analysis*. pp 465-506. Segunda Edición. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S. y Hurst, G.D.D. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology* 18(22): 4541-4550.
- Giugliano, L.G., Collevatti, R.G. y Colli, G.R. 2007. Molecular dating and phylogenetic relationships among Teiidae (Squamata) inferred by molecular and morphological data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45(1): 168-179.
- Goicoechea, N., Padial, J.M., Chaparro, J.C., Castroviejo-Fisher, S. y De la Riva, I. 2012. Molecular phylogenetics, species diversity, and biogeography of the Andean lizards of the genus *Proctoporus* (Squamata: Gymnophthalmidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65(3): 953-964.

- Goloboff, P.A. 2003. Parsimony, likelihood, and simplicity. *Cladistics* 19: 91-103.
- Gorman, G.C. 1970. Chromosome and the systematics of the family Teiidae. *Copeia* 230-245.
- Grant, T. y Kluge, A.G. 2009. Perspective: Parsimony, explanatory power, and dynamic homology testing. *Systematics and Biodiversity* 7(4): 357-363.
- Graybeal, A. 1994. Evaluating the phylogenetic utility of genes: a search for genes informative about deep divergence among vertebrates. *Systematic Biology* 43(2): 174-193.
- Hamilton, C.A., Formanowicz, D.R. y Bond, J.E. 2011. Species delimitation and phylogeography of *Aphonopelma hentzi* (Araneae, Mygalomorphae, Theraphosidae): cryptic diversity in North American tarantulas. *PLoS One* 6(10): e26207.
- Harris, D.J., Sinclair, E.A., Mercader, N.L., Marshall, J.C. y Crandall, K.A. 1999. Squamata relationship based on c-mos nuclear DNA sequences. *Herpetological Journal* 9: 147-151.
- Harris, D.J. 2003. Codon bias variation in C-mos between squamate families might disort phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27(3): 540-544.
- Harris, D.M. 1985. Infralingual Plicae: Support for Boulenger's Teiidae (Sauria). *Copeia* (3): 560-565.
- Harris, D.M. 1994. Review of the Teiid lizard genus *Ptychoglossus*. *Herpetological Monographs* (8): 226-275.
- Hillis, D.M., y Dixon, M.T. 1991. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*. 66(4): 411-453.
- Hillis, D.M., Mable, B.K., Larson, A., Davis, S.K. y Zimmer, E.A. 1996. Nucleic Acids IV: Sequencing and Cloning. En: *Molecular Systematics* (D.M. Hillis, C. Moritz y

- B.K. Mable, Eds.) pp 321-384. Segunda Edición. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Holder, M.T. y Lewis, P.O. 2003. Phylogeny estimation: traditional and bayesian approaches. *Nature Reviews Genetics* 4(4): 275-284.
- Hoogmoed, M.S. 1973. Notes on the herpetofauna of Surinam IV. The lizards and amphisbaenians of Surinam. *Biogeographica* IV. Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
- Kass, R.E. y Raftery, A.E. 1995. Bayes factors. *Journal of the American Statistical Association* 90(430): 773-795.
- Katoh, K. y Toh, H. 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in Bioinformatics* 9(4): 286-298.
- Katoh, K. y Toh, H. 2010. MAFFT version 6: parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. *Bioinformatics* 26: 1899-1900.
- Kluge, A.G. y Grant, T. 2006. From conviction to anti-superfluity: old and new justifications of parsimony in phylogenetic inference. *Cladistics* 22: 276-288.
- Köhler, G., Diethert H.-H. y Vesely, M. 2012. A contribution to the knowledge of the lizard genus *Alopoglossus* (Squamata: Gymnophthalmidae). *Herpetological Monographs* 26: 173-188.
- Kubatko, L.H., Gibbs, L. y Bloomquist, E.W. 2011. Inferring species-level phylogenies and taxonomic distinctiveness using multilocus data in *Sistrurus* rattlesnakes. *Systematic Biology* 60(4): 393-409.
- Lewis, P.O., Holder, M.T. y Holsinger, K.E. 2005. Polytomies and bayesian phylogenetic inference. *Systematic Biology* 54(2): 241-253.

- Linnaeus, C. 1758. *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus differentiis, synonymis, Locis*. Tomus I. Holmiae. Laurentii Salvii. 823 pp.
- López-López, A., Hudson, P. y Galián, J. 2012. The *blackburni/murchisona* species complex in Australian *Pseudotetracha* (Coleoptera: Carabidae: Cicindelinae: Megacephalini): evaluating molecular and karyological evidence. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 50(3): 177-183.
- Luo, A., Qiao, H., Zhang, Y., Shi, W., Ho, S.Y.W., Xu, W., Zhang, A. y Zhu, C. 2010. Performance of criteria for selecting evolutionary models in phylogenetics: a comprehensive study based on simulated datasets. *BMC Evolutionary Biology* 10(242): 1471-2148.
- MacLean, W.P. 1974. Feeding and locomotor mechanisms of teiid lizards: functional morphology and evolution. *Papéis Avulsos de Zoologia* 15(27): 179-213.
- Maddison, W.P. y Maddison, D.R. 2011. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. Disponible en: <http://mesquiteproject.org>.
- Masters, B.C., Fan, V. y Ross, H.A. 2011. Species Delimitation - a Geneious plugin for the exploration of species boundaries. *Molecular Ecology Resources* 11(1): 154-157.
- McCormack, J.E., Peterson, A.T., Bonaccorso, E. y Smith, T.B. 2008. Speciation in the highlands of Mexico: genetic and phenotypic divergence in the Mexican jay (*Aphelocoma ultramarina*). *Molecular Ecology* 17(10): 2505-2521.
- McCracken, K.G. y Sorenson, M.D. 2005. Is homoplasy or lineage sorting the source of incongruent mtDNA and nuclear gene trees in the stiff-tailed ducks (*Nomonyx-Oxyura*)? *Systematic Biology* 54(1): 33-55.

- Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Robles-Gil, P., García-Urtiaga, M. J., Flores de Clava, L. y Bolívar, A. 1997. Megadiversidad: los países biológicamente más ricos del mundo. Cementos Mexicanos. México.
- Monaghan, M.T., Wild, R., Elliot, M., Fujisawa, T., Balke, M., Inward, D.J.G., Lees, D.C., Ranaivosolo, R. Eggleton, P., Barraclough, T.G. y Vogler, A.P. 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Systematic Biology* 58(3): 298-311.
- NCBI. 2012. Basic Local Alignment Search Tool. [en línea].
 <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&BLAST_PROGRAM_S=megaBlast&PAGE_TYPE=BlastSearch&SHOW_DEFAULTS=on&LINK_LOC=blasth> [consultado junio 2012].
- Northcutt, R.G., 1978. Forebrain and midbrain organization in lizards and its phylogenetic significance. En: *Behavior and Neurology of Lizards* (N. Greenberg y P.D. MacLean, Eds.) pp 11-64. National Institute of Mental Health, Rockville.
- Nuin, P.A., Wang, Z. y Tillier, E.R. 2006. The accuracy of several multiple sequence alignment programs for proteins. *BMC Bioinformatics* 7(471): 1471-2105.
- Nunes, P.M.S., Fouquet, A., Curcio, F.F., Kok, P.J.R. y Rodrigues, M.T. 2012. Cryptic species in *Iphisa elegans* Gray, 1851 (Squamata: Gymnophthalmidae) revealed by hemipenial morphology and molecular data. *Zoological Journal of the Linnean Society* 166: 361-376.
- Ogedengbe, J.D., Hanner, R.H. y Barta, J.R. 2011. DNA barcoding identifies *Eimeria* species and contributes to the phylogenetics of coccidian parasites (Eimeriorina, Apicomplexa, Alveolata). *International Journal for Parasitology* 41(8): 843-850.
- Opperdoes, F.R. 2009. Phylogenetic analysis using protein sequences. En: *The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and*

- hypothesis testing (P. Lemey, M. Salemi, y A.-M. Vandamme, Eds.) pp. 313-331. Segunda Edición. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- O'Shaughnessy, A.W.E. 1881. An account of the collection of lizards made by Mr. Buckley in Ecuador, and now in the British Museum, with descriptions of the new species. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1881: 227-241.
- Padial, J.M., Miralles, A., De la Riva, I. y Vences, M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7(16): 1-14.
- Peloso, P.L.V., Pellegrino, K.C.M., Rodrigues, M.T. y Ávila-Pires, T.C.S. 2011. Description and phylogenetic relationships of a new genus and species of lizard (Squamata, Gymnophthalmidae) from the Amazonian rainforest of Northern Brazil. *American Museum Novitates* (3713): 1-24.
- Pellegrino, K.C.M., Rodrigues, M.T., Yonenaga-Yassuda, Y. y Sites, J.W., Jr. 2001. A molecular perspective on the evolution of microteiid lizards (Squamata, Gymnophthalmidae), and a new classification for the family. *Biological Journal of the Linnean Society* 74: 315-338.
- Pellegrino, K.C.M., Rodrigues, M.T., Harris, D.J., Yonenaga-Yassuda, Y. y Sites, J.W., Jr. 2011. Molecular phylogeny, biogeography and insights into the origin of parthenogenesis in the Neotropical genus *Leposoma* (Squamata: Gymnophthalmidae): ancient links between the Atlantic Forest and Amazonia. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 61(2): 446-459.
- Peracca, M.G. 1904. Rettili ed anfibi. *Bollettino dei Musei di Zoologia ed Anatomia comparata della R. Università di Torino* 19:1-41.
- Peters, J.A. 1967. The lizards of Ecuador, a check list and key. *Proceedings of the United States National Museum. Smithsonian Institution* 119(3545): 1-49.

- Pons, J., Barraclough, T.G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D.P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W.D. y Vogler, A.P. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology* 55(4): 595-609.
- Presch, W. 1974. Evolutionary relationships and biogeography of the macroteiid lizards (Family Teiidae, Subfamily Teiinae). *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences* 73: 23-32.
- Presch, W. 1980. Evolutionary history of the South American microteiid lizards (Teiidae: Gymnophthalminae). *Copeia* 1980: 36-56.
- Presch, W. 1983. The lizard family Teiidae: is it a monophyletic group? *Zoological Journal of the Linnean Society* 77(2): 189-197.
- Rambaut, A. y Drummond, A.J. 2009 Tracer. Version 1.5. Disponible en: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer/>.
- Rambaut, A. y Drummond, A.J. 2010. FigTree. Version 1.3.1. Disponible en: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- Rieppel, O. 1980. The trigeminal jaw adductor musculature of *Tupinambis*, with comments on the phylogenetic relationships of the Teiidae (Reptilia, Lacertilia). *Zoological Journal of the Linnean Society* 69(1): 1-29.
- Rodrigues, M.T., Freire, E.M.X., Pellegrino, K.M.C. y Sites, J.W., Jr. 2005. Phylogenetic relationships of a new genus and species of microteiid lizard from the Atlantic forest of north-eastern Brazil (Squamata, Gymnophthalmidae). *Zoological Journal Linnean Society* 144(4): 543-557.
- Rodrigues, M.T., Pellegrino, K.C., Dixo, M., Verdade, V.K., Pavan, D., Argôlo, A.J.S. y Sites, J. W., Jr. 2007. A new genus of microteiid lizard from the Atlantic forests of State of Bahia, Brazil, with a new generic name for *Colobosaura mentalis*, and a

- discussion of relationships among the Heterodactylini (Squamata, Gymnophthalmidae). American Museum novitates 3565: 1-27.
- Rodrigues, M.T., Cassimiro, J., Pavan, D., Curcio, F.F., Verdade, V.K. y Pellegrino, K.C. M. 2009. A new genus of microteiid lizard from the Caparaó Mountains, southeastern Brazil, with a discussion of relationships among Gymnophthalminae (Squamata). American Museum Novitates (3673):1-27.
- Ron, S.R., Guayasamin, J.M. y Yanez-Muñoz, M.H. 2013. AmphibiaWebEcuador. Version 2013.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <<http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/anfibios/AnfibiosEcuador>>, acceso 3 de marzo, 2013.
- Ronquist, F. y Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19(12): 1572- 574.
- Rosenberg, N.A. 2007. Statistical tests for taxonomic distinctiveness from observations of monophyly. Evolution 61(2): 317-323.
- Ross, H.A., Murugan, S. y Li, W.L.S. 2008. Testing the reliability of genetic methods of species identification via simulation. Systematic Biology 57(2): 216-230.
- Ruibal, R. 1952. Revisionary studies of some South American Teiidae. Bulletin of the Museum of Comparative Zoölogy. Harvard University 106: 477-529.
- Ruthven, A.G., 1924. Description of a new lizard of the genus *Alopoglossus*. Occasional Papers of the Museum of Zoology. University of Michigan 153: 1-3.
- Saint, K.M., Austin, C.C., Donnellan, S.C. y Hutchinson, M.N. 1998. C-mos, a nuclear marker useful for squamata phylogenetics analysis. Molecular Phylogenetics and Evolution 10(2): 259-263.

- Sánchez-Pacheco, S.J., Aguirre-Peñafiel, V. y Torres-Carvajal, O. 2012. Lizards of the genus *Riama* (Squamata: Gymnophthalmidae): the diversity in southern Ecuador revisited. *South American Journal of Herpetology* 7(3): 259-275.
- Schlötterer, C. 2004. The evolution of molecular markers - just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics* 5(1): 63-69.
- Schwarz, G. 1978. Estimating the dimension of a model. *The Annals of Statistics* 6(2): 461-464.
- Siedchlag, A.C., Benozzati, M.L., Passoni, J.C. y Rodrigues, M.T. 2010. Genetic structure, phylogeny, and biogeography of Brazilian eyelid-less lizards of genera *Calyptommatus* and *Nothobachia* (Squamata, Gymnophthalmidae) as inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56(2): 622-630.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. y Flook, P. 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America* 87(6): 651-701.
- Sites, J.W., Jr., Davis, S.K., Guerra, T., Iverson, J.B. y Snell, H.L. 1996. Character congruence and phylogenetic signal in molecular and morphological data sets: A case study in the Living Iguanas (Squamata, Iguanidae). *Molecular Biology and Evolution* 13(8): 1087-1105.
- Smith, S., Widmann, J. y Knight, R. 2007. Evolutionary rates vary among rRNA structural elements. *Nucleic Acids Research* 35(10): 3339-3354.
- Springer, M.S., DeBry, R.W., Douady, C., Amrine, H.M., Madsen, O., de Jong, W.W. y Stanhope, M.J., 2001. Mitochondrial versus nuclear gene sequences in deep-level

- mammalian phylogeny reconstruction. *Molecular Biology and Evolution* 18(2): 132-143.
- Suzuki, Y., Glazko, G.V. y Nei, M. 2002. Overcredibility of molecular phylogenies obtained by Bayesian phylogenetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 99(25): 16138-16143.
- Swofford, D.L. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and OtherMethods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Torres-Carvajal, O. 2011. Lista actualizada de las lagartijas de Ecuador con comentarios acerca de su diversidad. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*. 32(1 y 2): 119-133.
- Torres-Carvajal, O. y de Queiroz, K. 2009. Phylogeny of hoplocercine lizards (Squamata: Iguania) with estimates of relative divergence times. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 50(1): 31-43.
- Torres-Carvajal, O. y Salazar-Valenzuela, D. 2013. ReptiliaWebEcuador. Versión 2013.0. Museo de Zoología QCAZ, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <<http://zoologia.puce.edu.ec/Vertebrados/reptiles/reptilesEcuador>>, acceso 4 de marzo, 2013.
- Torres-Carvajal, O. y Mafla-Endara, P. 2013. Evolutionary history of Andean *Pholidobolus* and *Macropholidus* (Squamata: Gymnophthalmidae) lizards. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. En Prensa.
- Vandamme, A.-M. 2009. Basic concepts of molecular evolution. En: *The Phylogenetic Handbook: a practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing* (P. Lemey, M. Salemi, y A.-M. Vandamme, Eds.) pp 1-28. Segunda Edición. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.

- Vanzolini, P.E. y Valencia, J. 1965. The genus *Dracaena*, with a brief consideration of macroteiid relationships (Sauria, Teiidae). *Arquivos de Zoologia, São Paulo* 13: 7-46.
- Vitt, L.J. y de la Torre, S. 1996. Guía para la Investigación de las Lagartijas de Cuyabeno: A research guide to the lizards of Cuyabeno. *Monografías del Museo de Zoología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador* 1:1-165.
- Wiedenfeld, D.A. 2006. Aves, the Galapagos Islands, Ecuador. *Check List* 2: 1 - 27.
- Yang, Z., 1998. On the best evolutionary rate for phylogenetic análisis. *Systematic Biology* 47(1): 125-133.
- Yang, Z. y Rannala, B. 2012. Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nature Reviews Genetics* 13(5): 303-314.
- Zardoya, R. y Meyer, A. 1996. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates. *Molecular Biology and Evolution* 13(7): 933-942.
- Zharkikh, A. y Li, W.-H. 1992. Statistical properties of bootstrap estimation of phylogenetic variability from nucleotide sequences: II. Four taxa without a molecular clock. *Journal of Molecular Evolution* 35: 356-366.
- Zwickl, D.J. 2006. Genetic algoritim approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximun likelihood criterion. Ph.D. dissertation, The University of Texas at Austin.

8. FIGURAS

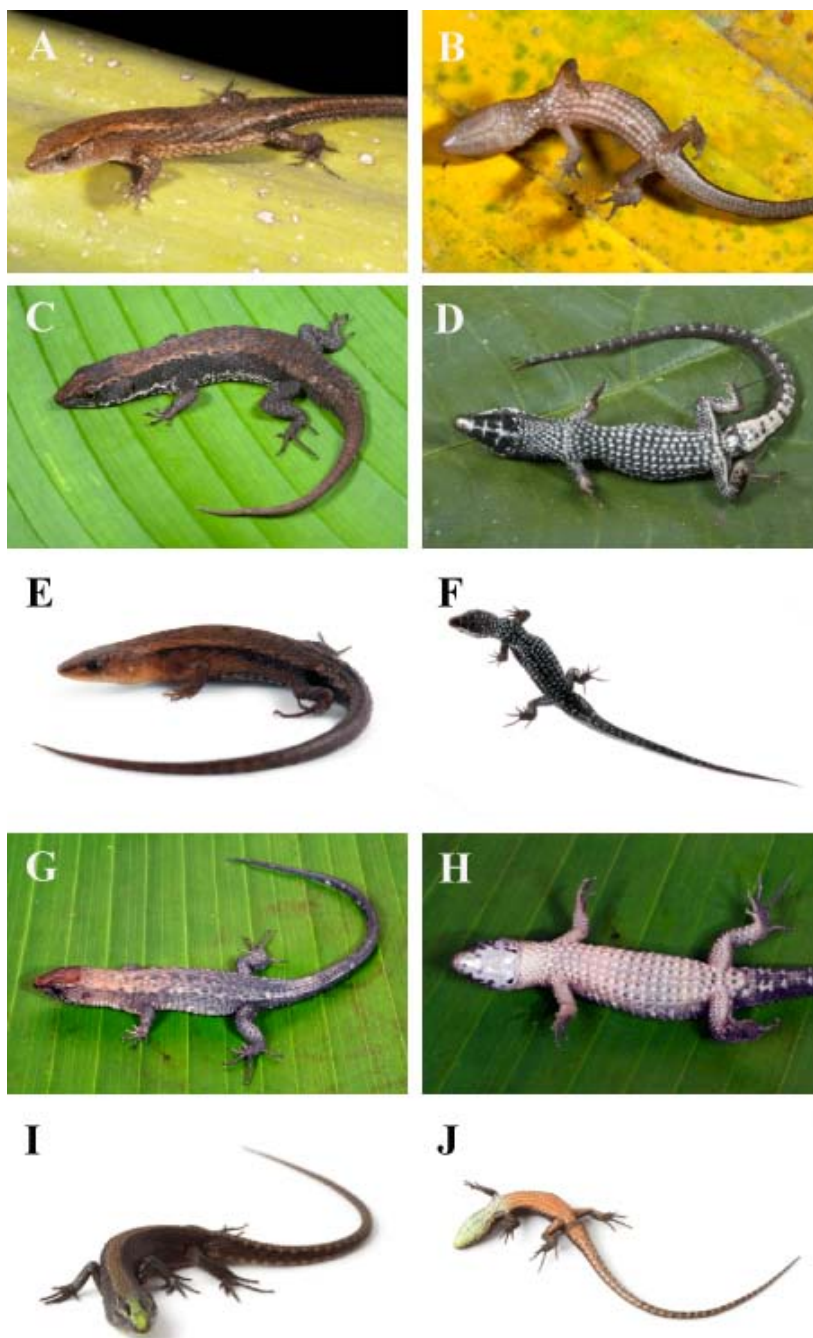


Figura 1. Vista dorsolateral y ventral de las especies de *Alopoglossus* registradas en el Ecuador: *A. angulatus* (A = QCAZ-R 7944; B = QCAZ-R 8489). *A. atriventris* (C = QCAZ-R 8250; D = QCAZ-R 8279). *A. buckleyi* (E = QCAZ-R 9986; F = QCAZ-R 9971). *A. copii* (G y H = QCAZ-R 8288). *A. festae* (I y J = QCAZ-R 10670). Fotografías: Diego Almeida Reinoso (A), Diego Paucar (C, D, G, H), Santiago Ron (B), Eduardo Toral-Contreras (E, F) y Omar Torres-Carvajal (I, J).

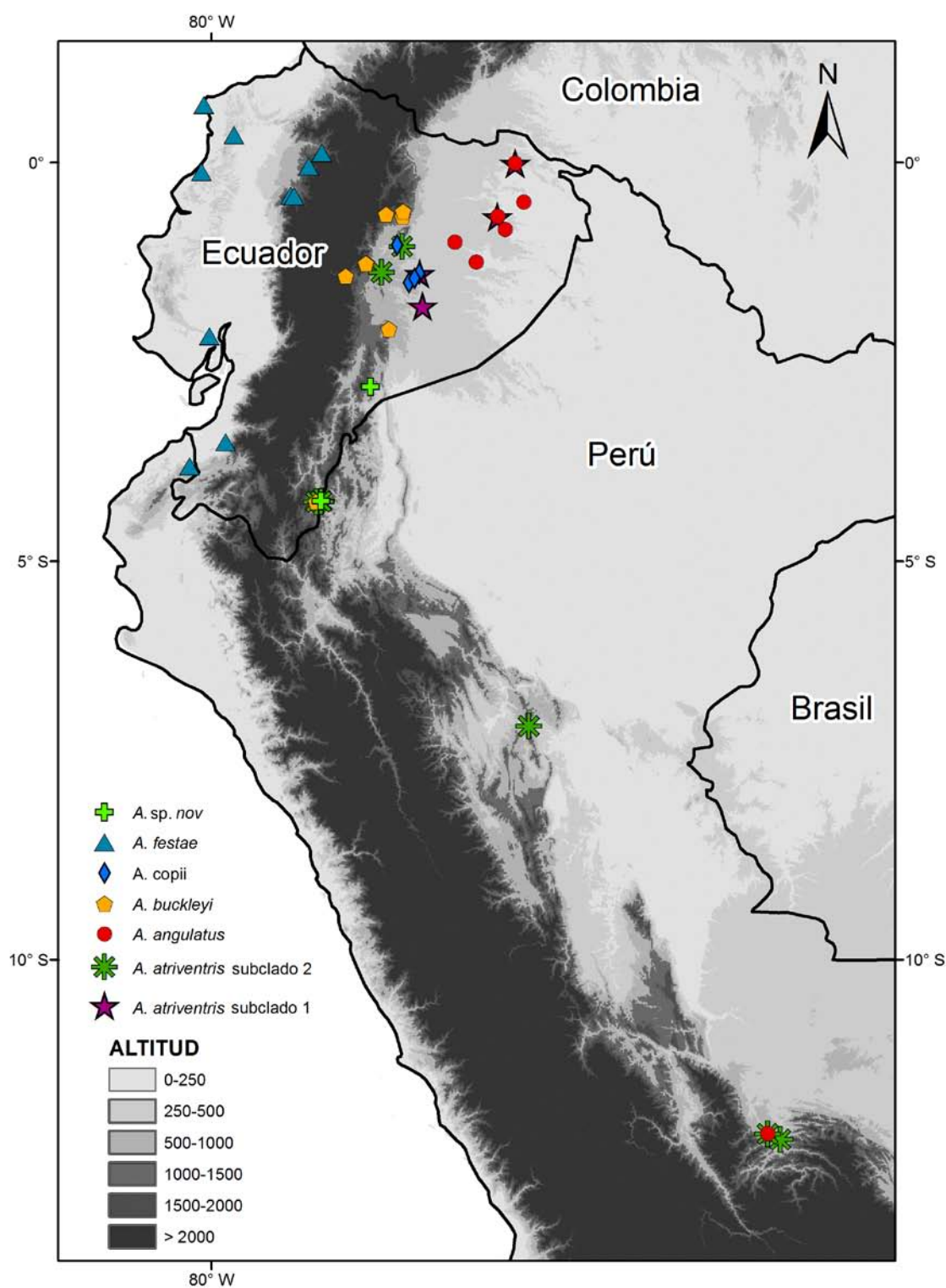


Figura 2. Mapa de distribución de los clados del género *Alopoglossus* inferidos en los análisis filogenético.

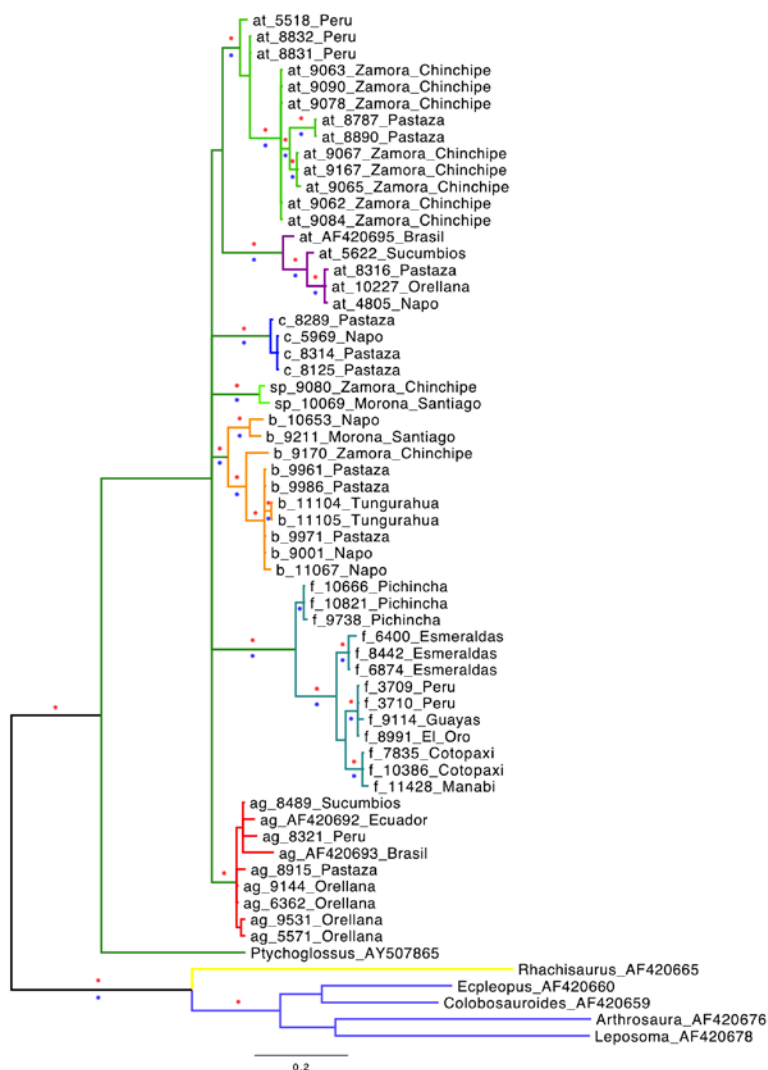


Figura 3. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen mitocondrial 12S, estrategia de partición 1. Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag=A. *angulatus*, at = A. *atriventris*, b = A. *buckleyi*, c = A. *copii*, f = A. *festae*, sp = A. *sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecpleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

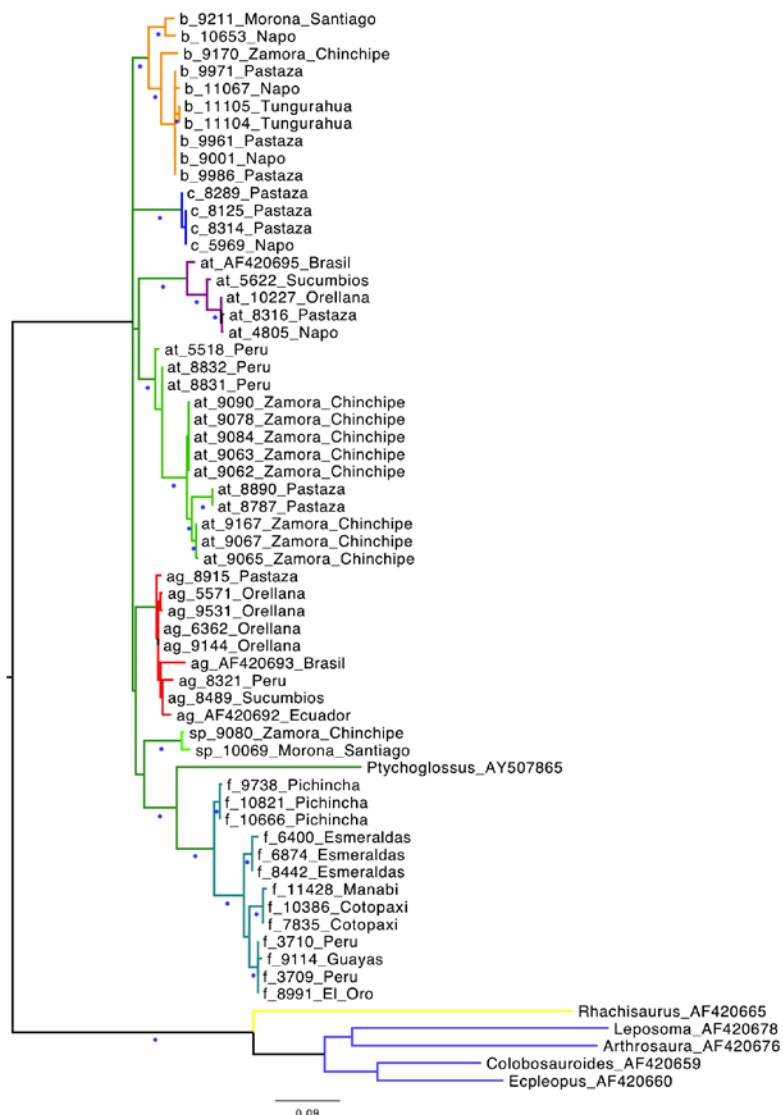


Figura 4. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen mitocondrial 12S, estrategia de partición 1. Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecpleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

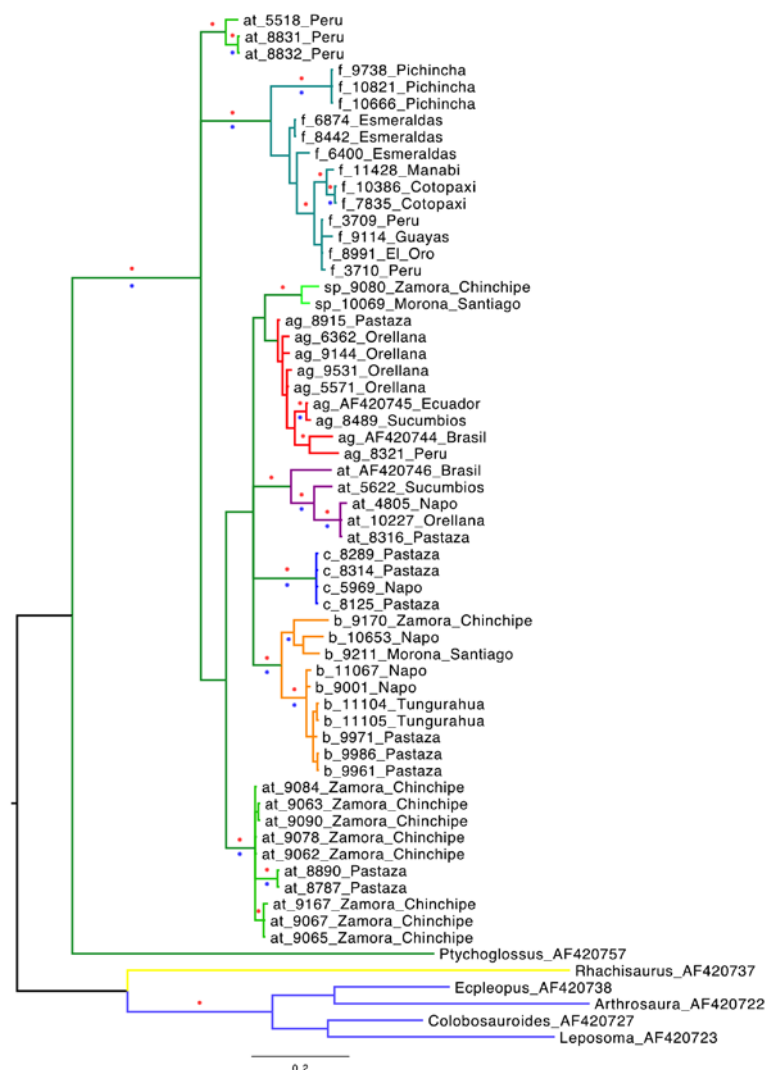


Figura 5. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen mitocondrial 16S, estrategia de partición 2. Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecpleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

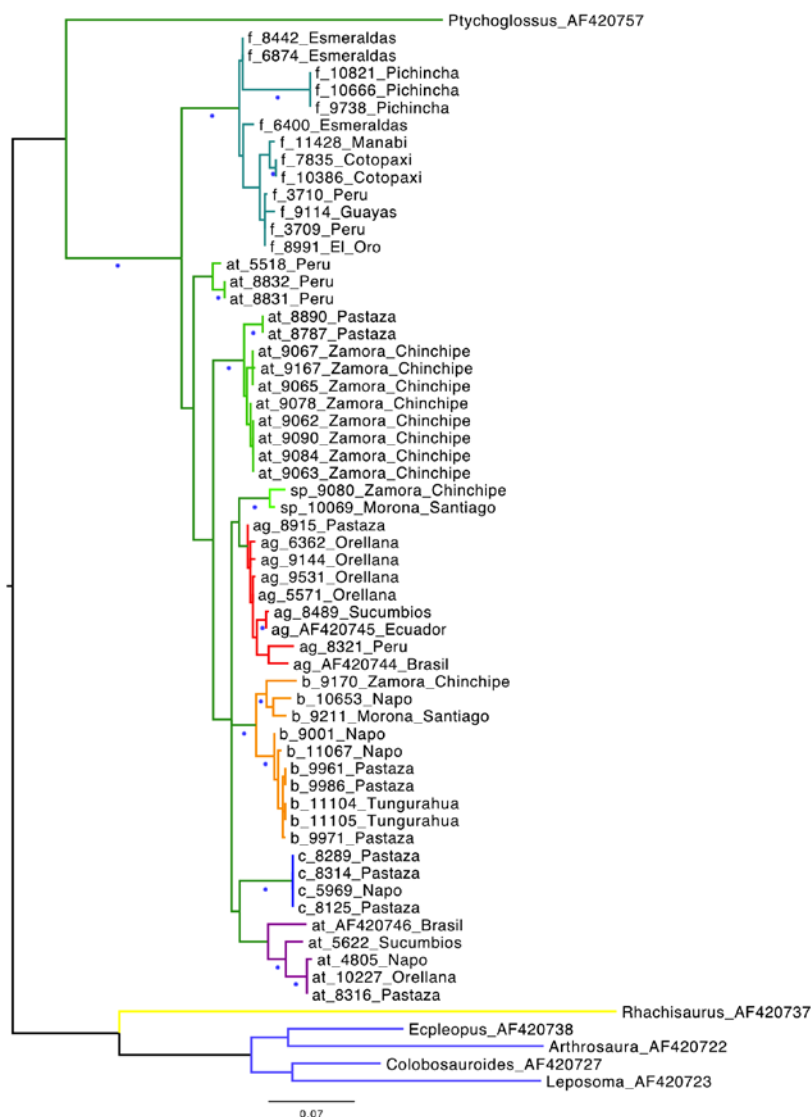


Figura 6. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen mitocondrial 16S, estrategia de partición 2. Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecpleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

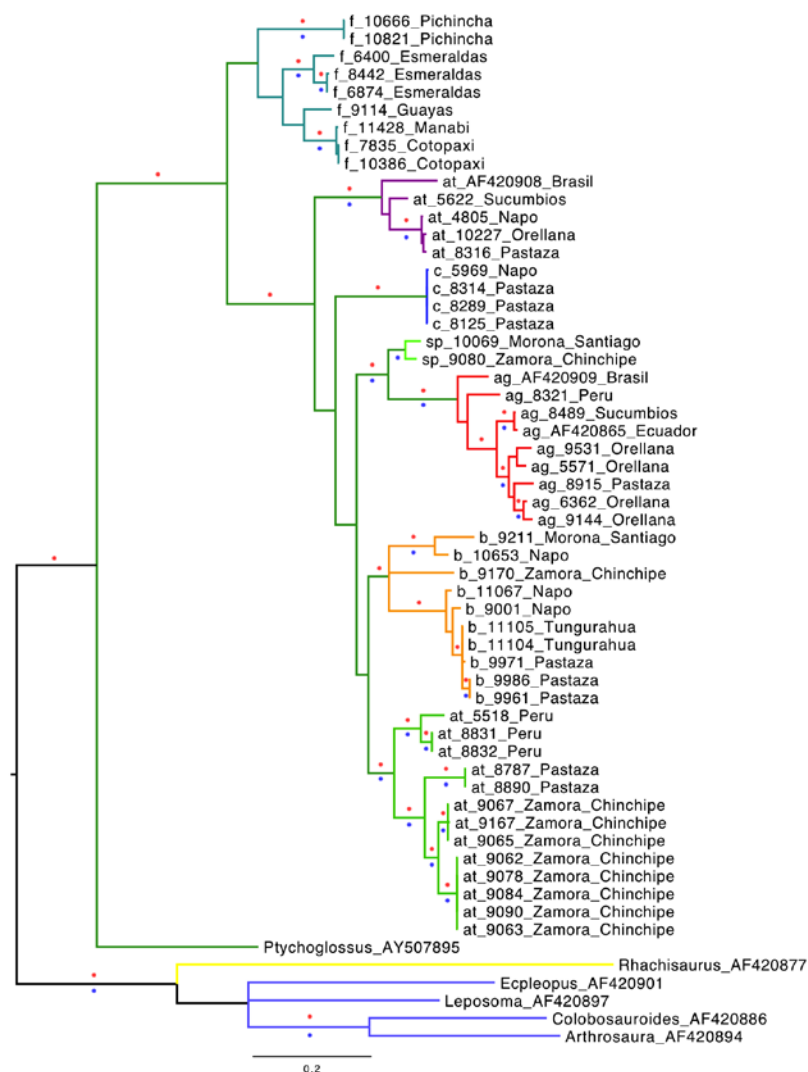


Figura 7. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen mitocondrial ND4, estrategia de partición 3. Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

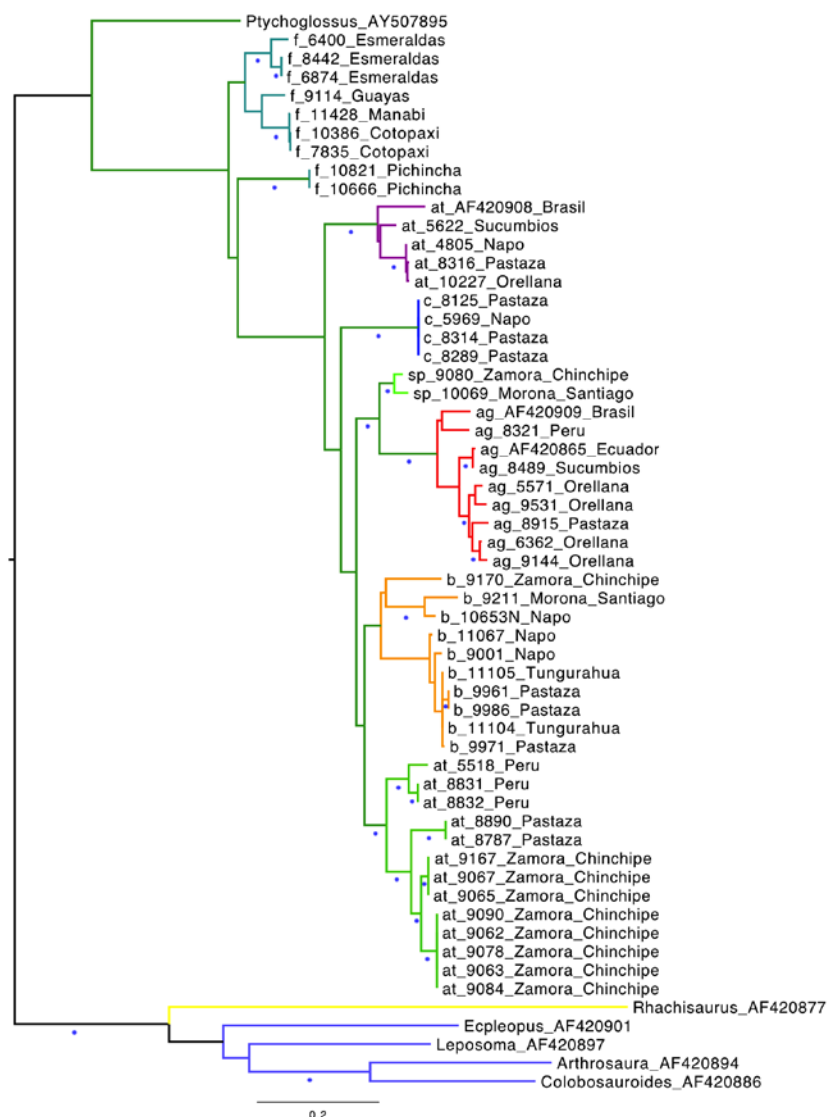


Figura 8. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen mitocondrial ND4, estrategia de partición 3. Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecpleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

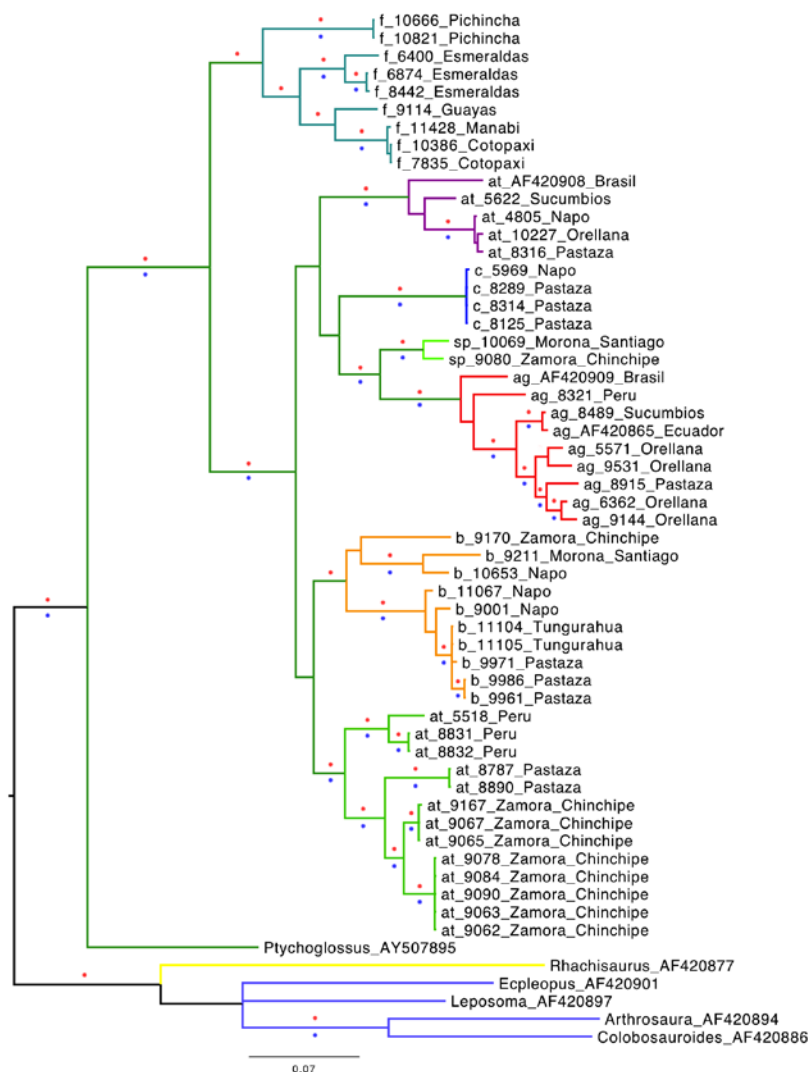


Figura 9. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen mitocondrial ND4, estrategia de partición 4 (1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} posición de codón). Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecpleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

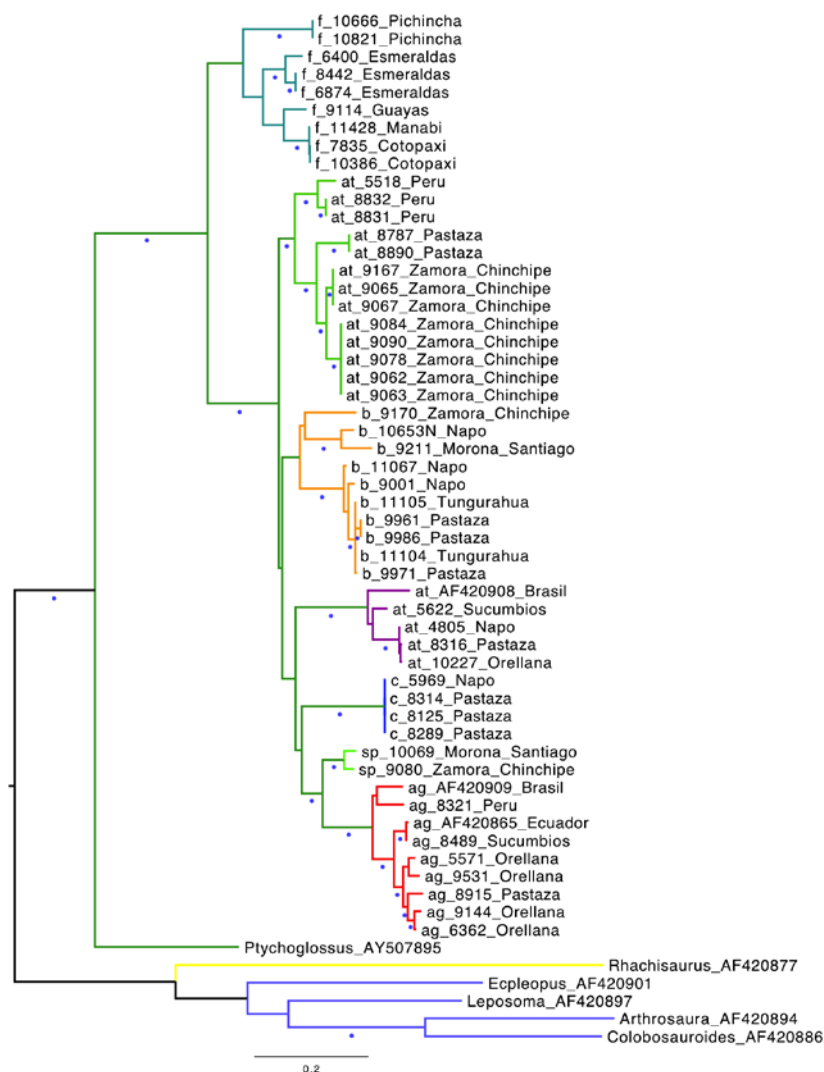


Figura 10. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen mitocondrial ND4, estrategia de partición 4 (1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} posición de codón). Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

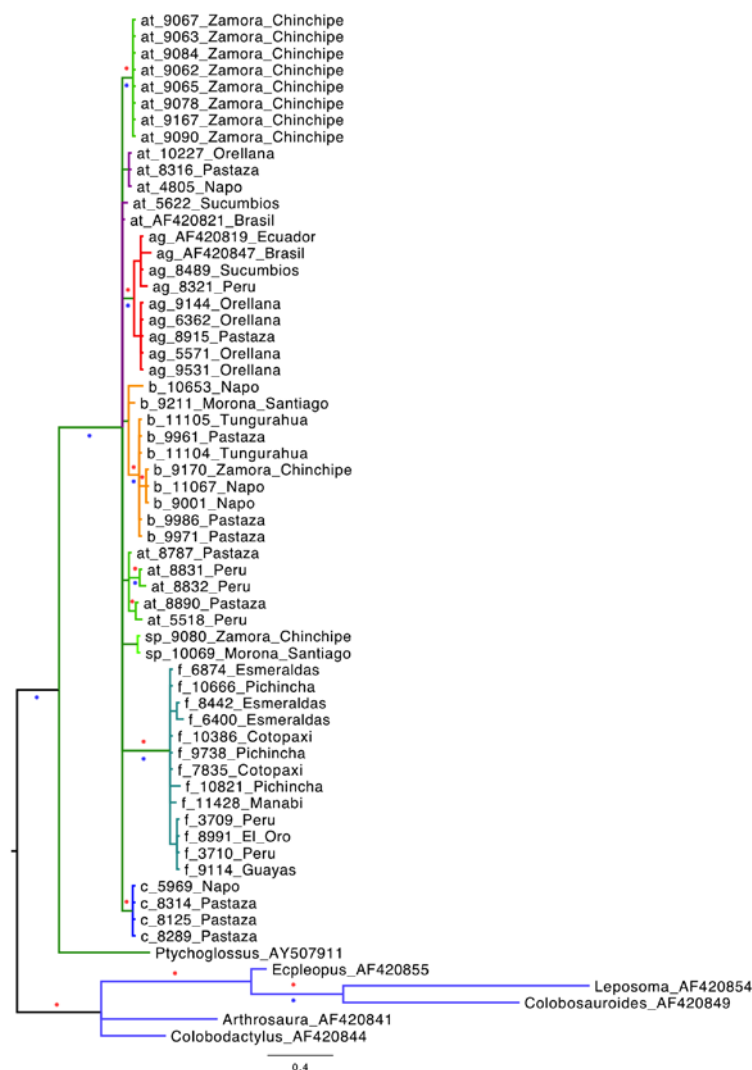


Figura 11. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen nuclear *c-mos*, estrategia de partición 5. Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Eupleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

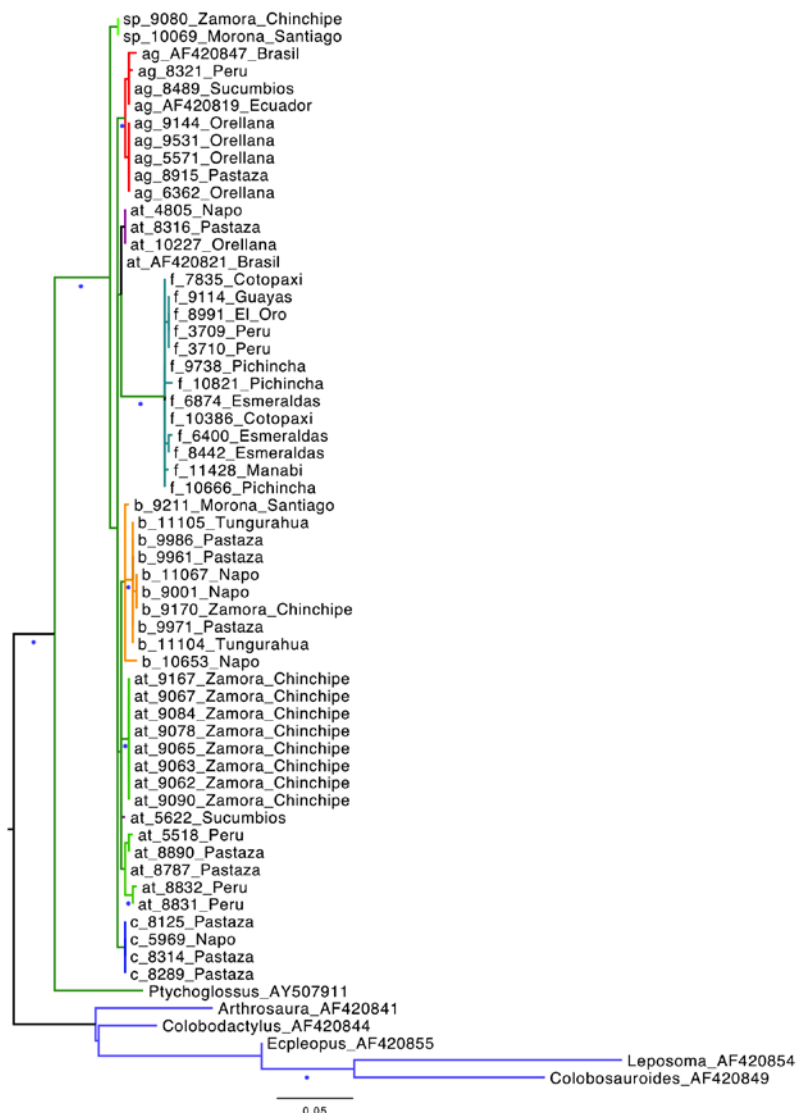


Figura 12. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen nuclear c-mos, estrategia de partición 5. Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecpleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

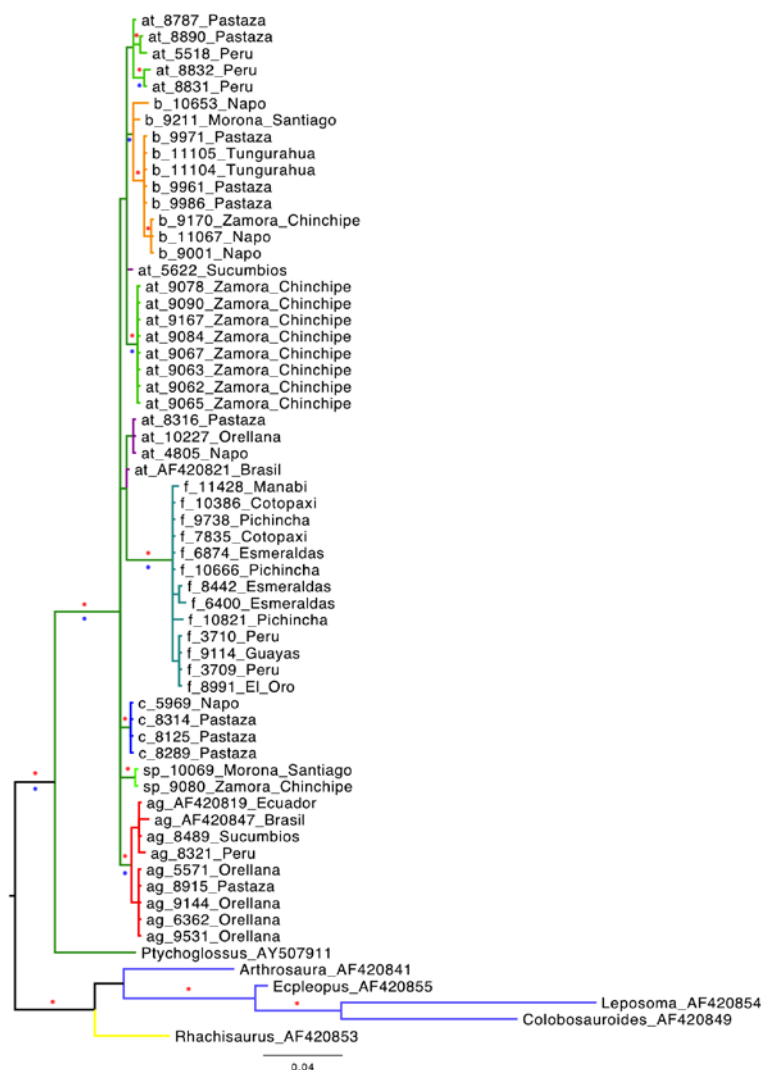


Figura 13. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano del gen nuclear c-mos, estrategia de partición 6 (1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} posición de codón). Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecpleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

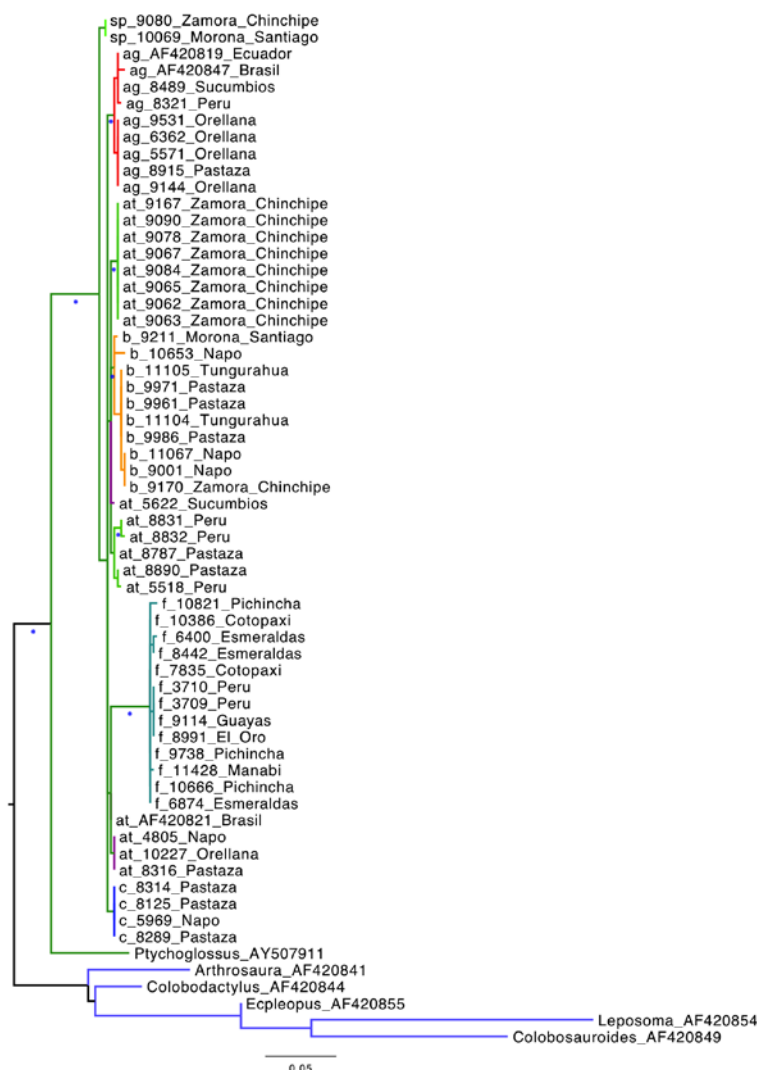


Figura 14. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud del gen nuclear c-mos, estrategia de partición 6 (1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} posición de codón). Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Ecleopodinae (morado), y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

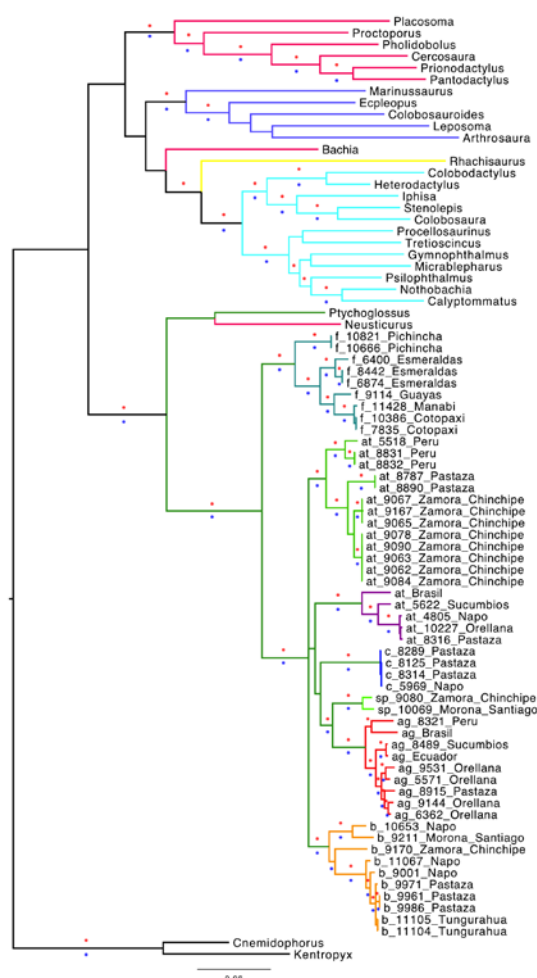


Figura 15. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano de los genes mitocondriales, estrategia de partición 7 (12S, 16S y ND4). Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Cercosaurinae (rosado), Ecpleopodinae (morado), Gymnophthalminae (celeste) y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

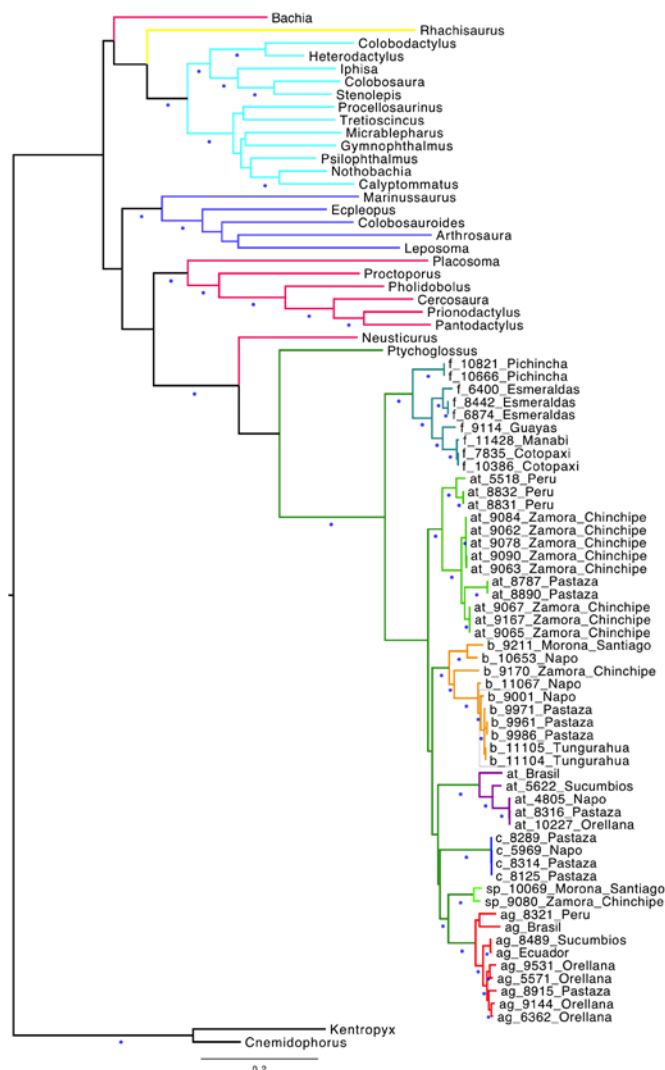


Figura 16. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud de los genes mitocondriales, estrategia de partición 7 (12S, 16S y ND4). Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Cercosaurinae (rosado), Ecleopodinae (morado), Gymnophthalminae (celeste) y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

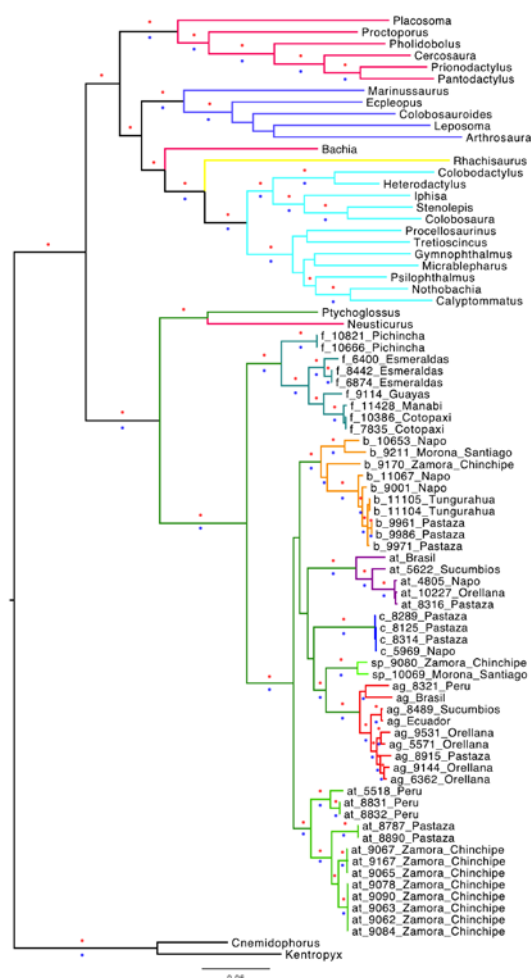


Figura 17. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano de los genes mitocondriales, estrategia de partición 8 (12S, 16S, 1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} posición de los codones de ND4). Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Cercosaurinae (rosado), Ecpleopodinae (morado), Gymnophthalminae (celeste) y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

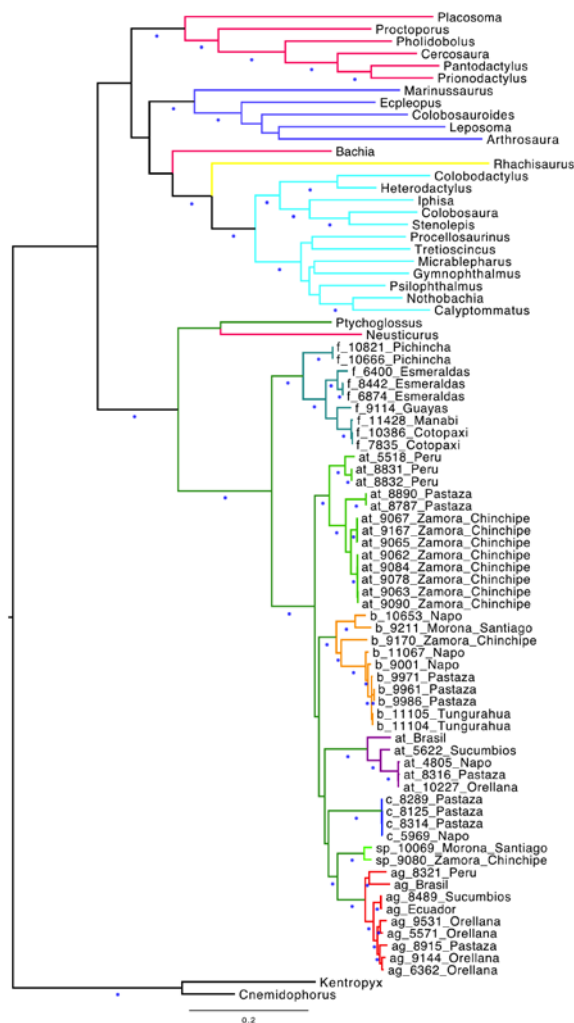


Figura 18. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud de los genes mitocondriales, estrategia de partición 8 (12S, 16S, 1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} posición de los codones de ND4). Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov.*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Cercosaurinae (rosado), Ecleopodinae (morado), Gymnophthalminae (celeste) y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

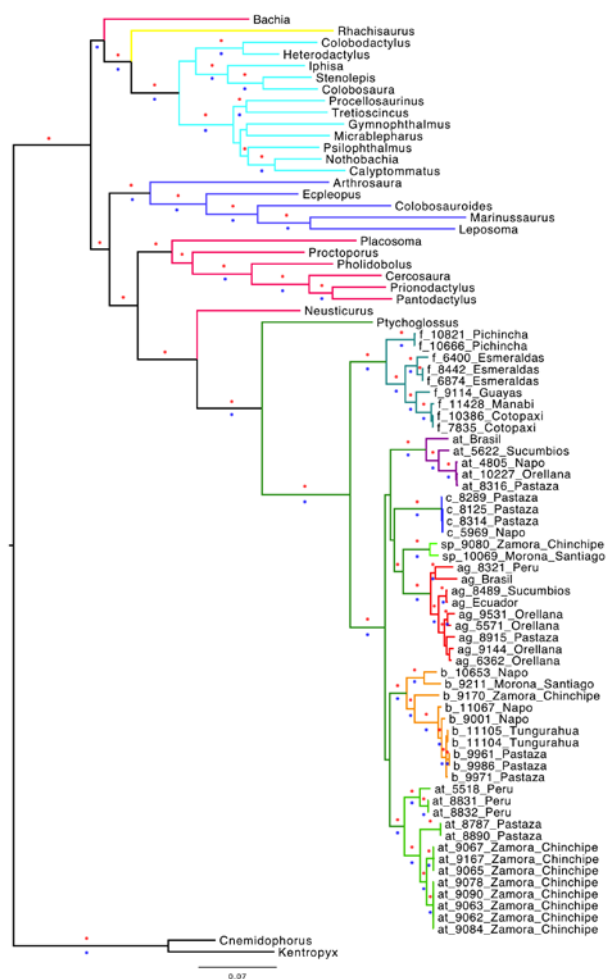


Figura 19. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano de los genes combinados, estrategia de partición 9 (12S, 16S, ND4 y c-mos). Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Cercosaurinae (rosado), Ecpleopodinae (morado), Gymnophthalminae (celeste) y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

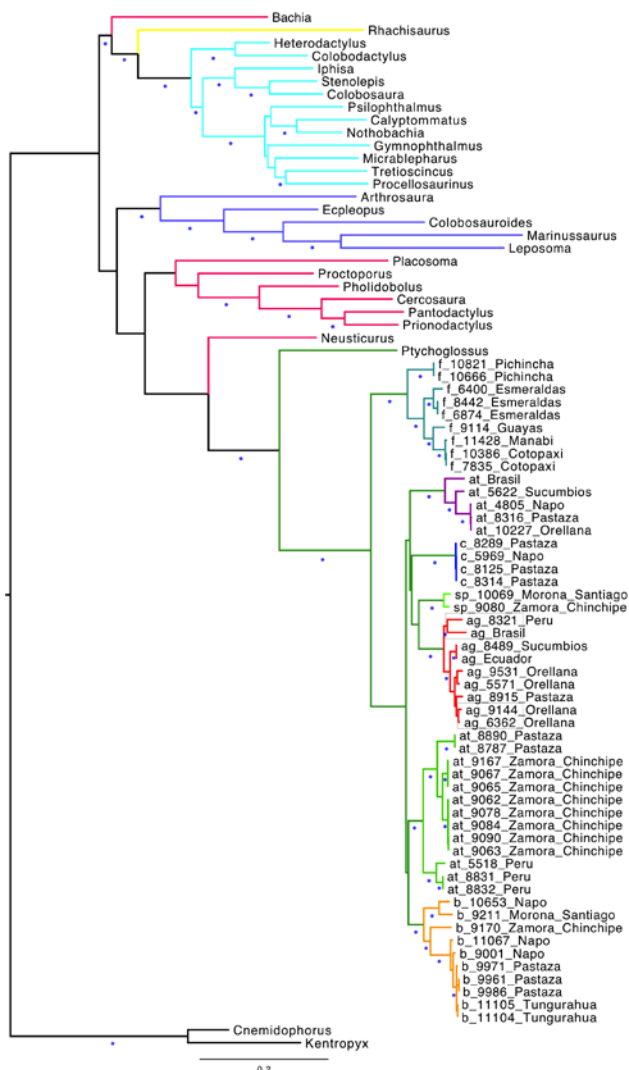


Figura 20. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud de los genes combinados, estrategia de partición 9 (12S, 16S, ND4 y c-mos). Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Cercosaurinae (rosado), Ecleopodinae (morado), Gymnophthalminae (celeste) y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

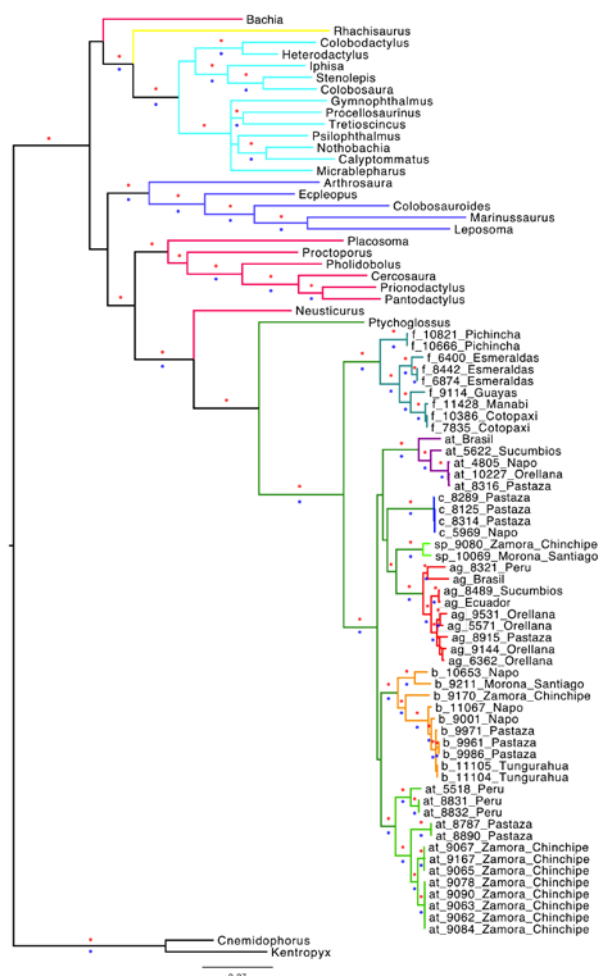


Figura 21. Filograma del árbol consenso mayoritario bayesiano de los genes combinados, estrategia de partición 10 (12S, 16S, 1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} posición de ND4 y c-mos). Los círculos rojos y azules en las ramas representan los valores de alto soporte, probabilidades posteriores (> 0.95) y bootstrap no paramétrico de máxima verosimilitud (> 0.70), respectivamente. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de Gymnophthalmidae: Alopoglossinae (verde), Cercosaurinae (rosado), Eupleopodinae (morado), Gymnophthalminae (celeste) y Rhachisaurinae (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

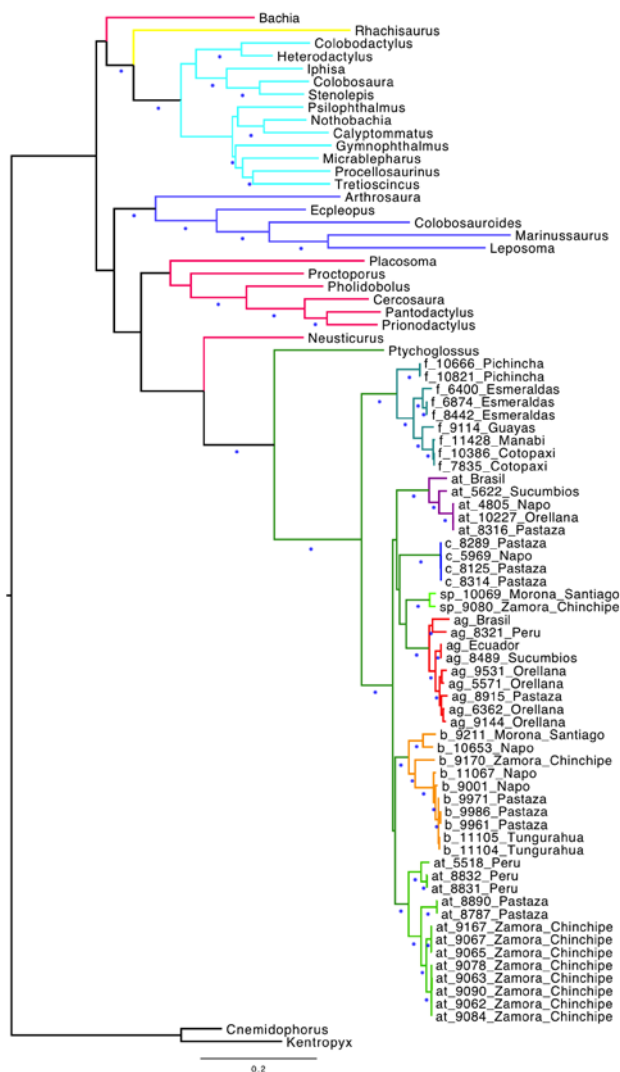


Figura 22. Filograma del árbol consenso mayoritario de máxima verosimilitud de los genes combinados, estrategia de partición 10 (12S, 16S, 1^{ra}, 2^{da} y 3^{ra} posición de ND4 y c-mos). Los círculos azules debajo de las ramas representan los valores de alto soporte de bootstrap no paramétrico (> 0.70). Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección. Se presentan las subfamilias dentro de *Gymnophthalmidae*: *Alopoglossinae* (verde), *Cercosaurinae* (rosado), *Ecleopodinae* (morado), *Gymnophthalminae* (celeste) y *Rhachisaurinae* (amarillo). El largo de las ramas representa en unidades, el número de sustituciones por sitio.

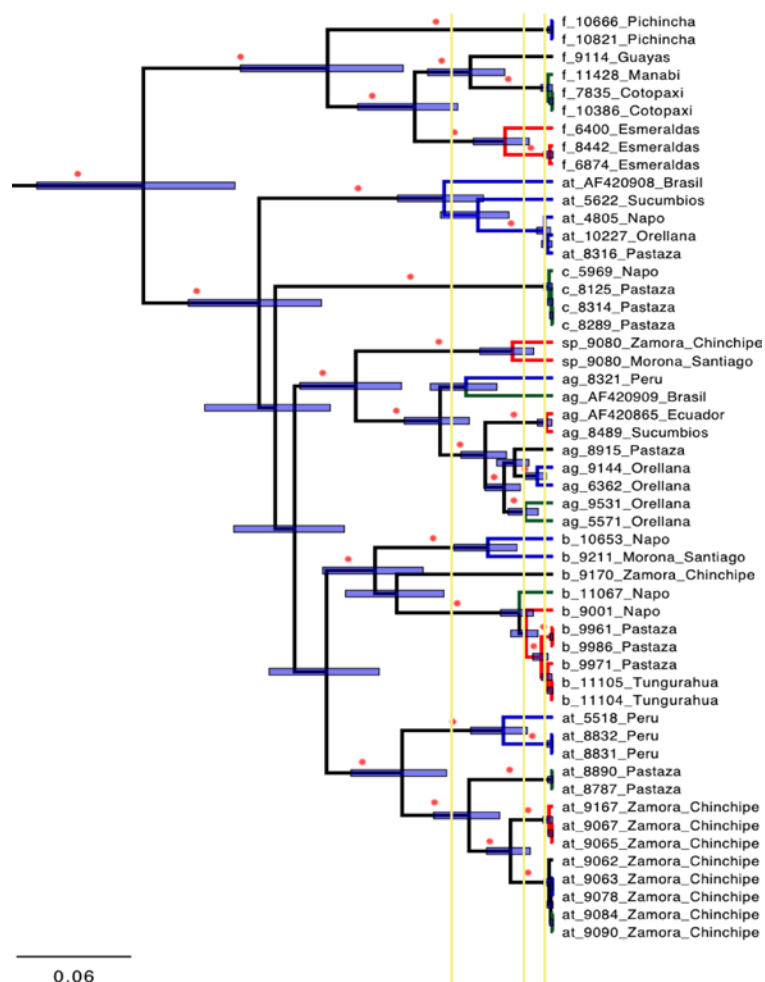


Figura 23. Árbol consenso de máxima credibilidad generado en el análisis de tiempos de divergencia, con datos del gen mitocondrial ND4 (estrategia de partición 3). Los círculos rojos sobre las ramas señalan los nodos con valores de probabilidades posteriores altos (> 0.95). El 95% del intervalo de densidad posterior (HPD) de la edad de los nodos se representa con barras azules horizontales en los nodos, que indican la incertidumbre en los tiempos de divergencia. Cada línea vertical amarilla muestra el punto de transición de las ramas desde un proceso de especiación (Yule) hasta la coalescencia de las mismas, estimados por un modelo de umbral múltiple. Se muestran las iniciales de las especies (ag = *A. angulatus*, at = *A. atriventris*, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae*, sp = *A. sp. nov*), seguidos del número QCAZ y localidades de colección.

9. TABLAS

Tabla 1. Protocolos para la amplificación de los genes mitocondriales y el gen nuclear, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Gen y cebadores		Secuencias (5' – 3')	Protocolo
12S	12Sa-2;12Sb	F: CTGGGATTAGATACCCCACTA R: TGAGGAGGGTGACGGGCGGT	((94.00 °C - 3 min, 1 ciclo); (94.00 °C - 00:30 seg, 52.00 °C - 01:00 min, 72.00 °C - 01:00 min, 45 ciclo)/(72.00 °C - 10:00 min, 1 ciclo)/ (4.00 °C))
16S	16SFO; 16SRO	F: CTGTTTACCAAAAACATMRCCTYTA R: TAGATAGAAACCGACCTGGATT	((96.00 °C - 3 min, 1 ciclo); (95.00 °C - 00:30 seg, 52.00 °C - 01:00 min, 72.00 °C - 01:00 min, 40 ciclo)/(72.00 °C - 10:00 min, 1 ciclo)/ (4.00 °C))
	16Sl; 16Sh	F: CGCCTGTTTAACAAAAACAT R: CCGGTCTGAACTCAGATCACGT	
ND4	ND4F; ND4R	F: CACCTATGACTACCAAAAGCTCATGT R: CATTACTTTTACTTGGATTTCACCA	((94.00 °C - 03:30 seg, 42.00 °C - 01:00 min, 68.00 °C - 01:30 min, 1 ciclo);
	ND412931L; ND4R	F: CTACCAAAAGCTCATGTAGAAGC R: CATTACTTTTACTTGGATTTCACCA	(94.00 °C - 00:30 seg, 50,00-52.00 °C - 00:30 min, 72.00 °C - 01:00 min, 40 ciclo)/(72.00 °C - 15:00 min, 1 ciclo)/ (4.00 °C))
	ND4; Leu	F: CACCTATGACTACCAAAAGCTCATGTAGAAGC R: CATTACTTTTACTTGGATTTCACCA	
c-mos	G73; G74	F: GCGGTAAAGCAGGTGAAGAAA R: TGAGCATCCAAAGTCTCCAATC	((96.00 °C - 3 min, 1 ciclo); (95.00 °C - 00:45 seg, 54.00 °C - 00:45 min, 72.00 °C - 01:00 min, 45 ciclos) /(72.00 °C - 10:00 min, 1 ciclo)/ (4.00 °C))

Tabla 2. Parámetros estimados para el análisis de máxima verosimilitud e inferencia bayesiana.

Gen	Modelos de evolución	Valor BIC	- lnL	I	Γ	Tasas de sustitución						Frecuencia de bases			
						AC	AG	AT	CG	CT	GT	A	C	G	T
12S	TIM2+G	7109.6335	3162.2198	0	0.3150	6.5508	11.826	6.5508	1.0000	38.385	1.0000	0.3562	0.2704	0.1576	0.2158
16S	012022+I+G+F	7552.1140	3367.6751	0.4710	0.4190	0.0329	5.9314	1.0000	0.0329	1.0000	1.0000	0.2330	0.1910	0.2444	0.3317
ND4	012232+I+G+F	13833.7942	6528.5424	0.4300	1.0550	0.4716	13.027	1.0000	1.0000	6.3812	1.0000	0.3603	0.3309	0.0744	0.2345
ND4, 1 ^{ra} posición	011020+G+F	3643.6528	1505.7549	0	0.3140	1.0000	11.226	11.226	1.0000	48.730	1.0000	0.3376	0.3003	0.2033	0.1588
ND4, 2 ^{da} posición	011110+G+F	1545.3667	459.2458	0	0.1010	1.0000	7.8168	7.8168	7.8168	7.8168	1.0000	0.1636	0.2815	0.1502	0.4047
ND4, 3 ^{ra} posición	TrN+G	8873.9332	4120.8951	0	3.8250	1.0000	30.248	1.0000	1.0000	9.2717	1.0000	0.3849	0.3308	0.0549	0.2295
c-mos	012010+I	4524.2246	1886.8693	0.4770	0	1.0000	3.9753	0.3477	1.0000	3.9753	1.0000	Frecuencias iguales			
c-mos, 1 ^{ra} posición	F81	1460.4401	423.6404	0	0	Tasas iguales						0.2905	0.2212	0.3162	0.1721
c-mos, 2 ^{da} posición	010110+I+F	1529.9727	453.5014	0.5930	0	1.0000	12.782	1.0000	12.782	12.782	1.0000	0.3394	0.1533	0.2225	0.2848
c-mos, 3 ^{ra} posición	HKY+G	2394.5071	885.7686	0	1.9590	Radio Ti/Tv= 2.7192						0.1774	0.3701	0.2379	0.2147

BIC = Criterio de información bayesiana; I = proporción de sitios invariables; Γ = tasa de variación entre sitios según la distribución gamma.

Tabla 3. Comparación de las estrategias alternativas de partición usadas en el análisis de inferencia bayesiana. El valor de factor de bayes en negrillas indica la estrategia de partición favorecida.

Partición	Factores de Bayes (2Ln)	Error estándar	Partición 1	Partición 2
Partición 1	-28826.528	+/- 0.314		183.861
Partición 2	-29249.884	+/- 0.322	-183.861	

Partición 1 = 12S, 16S, ND4, c-mos

Partición 2 = 12S, 16S, 1^{ra} posición ND4, 2^{da} posición ND4, 3^{ra} posición ND4, 1^{ra} posición c-mos, 2^{da} posición c- mos, 3^{ra} posición c-mos

Tabla 4. Estrategias de partición utilizados en el análisis de estimación de tiempos de divergencia, se muestran los valores de tamaño efectivo de la muestra del parámetro prior (ESS Prior). Valores menores a 100 representan la no convergencia de las muestras en las cadenas Markov.

Estrategia de partición	Número de Taxa	Número de nucleótidos	Modelos de evolución	ESS (Prior)
ND4	58	582	012232+I+G+F	679.394
12S 16S ND4 c-mos	81	2032	TIM2+G 012022+I+G+F 012232+I+G+F 012010+I	12.578
12S 16S ND4, 1 ^{ra} posición ND4, 2 ^{da} posición ND4, 3 ^{ra} posición c-mos, 1 ^{ra} posición c-mos, 2 ^{ra} posición c-mos, 3 ^{ra} posición	81	2032	TIM2+G 012022+I+G+F 011020+G+F 011110+G+F TrN+G F81 010110+I+F HKY+G	15.956
12S 16S ND4, 1 ^{ra} posición ND4, 2 ^{da} posición ND4, 3 ^{ra} posición c-mos, 1 ^{ra} posición c-mos, 2 ^{ra} posición c-mos, 3 ^{ra} posición	23	2013	HKY+G HKY+I+G+F HKY+G+F HKY+G+F HKY+G F81 HKY+I+F HKY+G	29.165

Tabla 5. Proporción de caracteres parsimónicos informativos (CPI) y caracteres variables (CV).

Gen	Número de nucleótidos	Número de CPI	Proporción de CPI	Número de CV	Proporción de CV
12S	453	108	0.24	132	0.3
16S	574	96	0.17	120	0.21
ND4	582	289	0.5	317	0.54
c-mos (ADNn)	405	97	0.24	129	0.32
ADNmt	1627	498	0.31	573	0.35
ADNmt+ ADNn	2032	589	0.3	695	0.34

Tabla 6. Distancias genéticas corregidas (valores superiores) y no corregidas (valores inferiores) del gen mitocondrial 12S entre los siete clados y el grupo externo más cercano (*Ptychoglossus*).

	<i>A. angulatus</i>	<i>A. atriventris</i> (subclado 1)	<i>A. atriventris</i> (subclado 2)	<i>A. buckleyi</i>	<i>A. copii</i>	<i>A. festae</i>	<i>A. sp. nov</i>
<i>A. angulatus</i>	0-0.04 0-0.04						
<i>A. atriventris</i> (subclado 1)	0.09-0.18 0.07-0.11	0-0.05 0-0.04					
<i>A. atriventris</i> (subclado 2)	0.07-0.13 0.05-0.09	0.10-0.17 0.07-0.11	0-0.07 0-0.03				
<i>A. buckleyi</i>	0.07-0.11 0.05-0.08	0.11-0.17 0.08-0.11	0.07-0.12 0.05-0.08	0-0.08 0-0.06			
<i>A. copii</i>	0.08-0.14 0.06-0.10	0.10-0.19 0.07-0.11	0.06-0.12 0.05-0.08	0.09-0.14 0.07-0.09	0-0.003 0-0.003		
<i>A. festae</i>	0.13-0.22 0.09-0.13	0.15-0.23 0.10-0.13	0.13-0.25 0.09-0.14	0.13-0.20 0.09-0.13	0.11-0.23 0.08-0.14	0-0.07 0-0.06	
<i>A. sp. nov</i>	0.09-0.12 0.07-0.08	0.12-0.17 0.08-0.10	0.09-0.14 0.07-0.10	0.11-0.13 0.07-0.09	0.08-0.13 0.06-0.09	0.14-0.21 0.10-0.13	0.01 0-0.01
<i>Ptychoglossus</i>	0.29-0.34 0.15-0.17	0.32-0.36 0.16-0.17	0.31-0.37 0.16-0.18	0.31-0.36 0.16-0.17	0.26-0.32 0.15-0.16	0.29-0.34 0.15-0.17	0.31-0.32 0.16

Tabla 7. Distancias genéticas corregidas (valores superiores) y no corregidas (valores inferiores) del gen mitocondrial 16S entre los siete clados y el grupo externo más cercano (*Ptychoglossus*).

	<i>A. angulatus</i>	<i>A. atriventris</i> (subclado 1)	<i>A. atriventris</i> (subclado 2)	<i>A. buckleyi</i>	<i>A. copii</i>	<i>A. festae</i>	<i>A. sp. nov</i>
<i>A. angulatus</i>	0-0.04 0-0.03						
<i>A. atriventris</i> (subclado 1)	0.05-0.11 0.05-0.07	0-0.07 0-0.05					
<i>A. atriventris</i> (subclado 2)	0.07-0.12 0.03-0.07	0.08-0.12 0.05-0.07	0-0.08 0-0.06				
<i>A. buckleyi</i>	0.05-0.10 0.04-0.06	0.10-0.13 0.06-0.08	0.07-0.11 0.05-0.07	0-0.06 0-0.04			
<i>A. copii</i>	0.05-0.09 0.04-0.06	0.09-0.11 0.06-0.07	0.08-0.12 0.06-0.07	0.08-0.10 0.05-0.06	0		
<i>A. festae</i>	0.10-0.16 0.06-0.08	0.10-0.17 0.06-0.08	0.08-0.19 0.05-0.10	0.11-0.20 0.07-0.10	0.14-0.18 0.07-0.09	0-0.07 0-0.05	
<i>A. sp. nov</i>	0.04-0.07 0.03-0.05	0.10-0.13 0.06-0.08	0.07-0.11 0.05-0.07	0.07-0.10 0.05-0.06	0.09-0.10 0.06	0.15-0.20 0.08-0.10	0.02 0.02
<i>Ptychoglossus</i>	0.42-0.51 0.14-0.16	0.45-0.50 0.15-0.16	0.44-0.56 0.14-0.16	0.47-0.59 0.15-0.16	0.44-0.53 0.15-0.16	0.49-0.56 0.15-0.16	0.49-0.53 0.15-0.16

Tabla 8. Distancias genéticas corregidas (valores superiores) y no corregidas (valores inferiores) del gen mitocondrial ND4 entre los siete clados y el grupo externo más cercano (*Ptychoglossus*).

	<i>A. angulatus</i>	<i>A. atriventris</i> (subclado 1)	<i>A. atriventris</i> (subclado 2)	<i>A. buckleyi</i>	<i>A. copii</i>	<i>A. festae</i>	<i>A. sp. nov</i>
<i>A. angulatus</i>	0-0.01 0-0.01						
<i>A. atriventris</i> (subclado 1)	0.01-0.02 0.01-0.02	0-0.01 0-0.01					
<i>A. atriventris</i> (subclado 2)	0.01-0.03 0.01-0.03	0.01-0.02 0.01-0.02	0-0.01 0-0.02				
<i>A. buckleyi</i>	0.02-0.03 0.02-0.03	0.01-0.02 0.01-0.02	0.01-0.02 0.01-0.02	0-0.02 0-0.0			
<i>A. copii</i>	0.01-0.02 0.01-0.02	0-0.01 0-0.01	0.01-0.02 0.01-0.02	0.01-0.02 0.01-0.02	0		
<i>A. festae</i>	0.04-0.05 0.04-0.05	0.03-0.04 0.03-0.04	0.04-0.05 0.04-0.05	0.03-0.06 0.04-0.05	0.04-0.05 0.04	0-0.01 0-0.01	
<i>A. sp. nov</i>	0.02 0.02	0.01-0.02 0.01-0.02	0.02 0.02	0.01-0.02 0.01-0.02	0.01-0.02 0.02	0.05 0.04-0.05	0
<i>Ptychoglossus</i>	0.12 0.09-0.10	0.11-0.12 0.09	0.11-0.12 0.09	0.11-0.12 0.09-0.10	0.11-0.12 0.09	0.12-0.14 0.09-0.11	0.11 0.09

Tabla 9. Distancias genéticas corregidas (valores superiores) y no corregidas (valores inferiores) del gen nuclear c-mos entre los siete clados y el grupo externo más cercano (*Ptychoglossus*).

	<i>A. angulatus</i>	<i>A. atriventris</i> (subclado 1)	<i>A. atriventris</i> (subclado 2)	<i>A. buckleyi</i>	<i>A. copii</i>	<i>A. festae</i>	<i>A. sp. nov</i>
<i>A. angulatus</i>	0-0.13 0.01-0.10						
<i>A. atriventris</i> (subclado 1)	0.28-0.38 0.15-0.17	0-0.12 0.01-0.09					
<i>A. atriventris</i> (subclado 2)	0.23-0.34 0.14-0.16	0.22-0.30 0.13-0.16	0-0.15 0-0.11				
<i>A. buckleyi</i>	0.26-0.37 0.15-0.18	0.28-0.38 0.14-0.19	0.14-0.26 0.11-0.15	0-0.20 0-0.13			
<i>A. copii</i>	0.24-0.30 0.14-0.16	0.25-0.32 0.14-0.16	0.23-0.29 0.14-0.16	0.25-0.30 0.15-0.16	0 0-0.02		
<i>A. festae</i>	0.35-0.45 0.16-0.19	0.34-0.44 0.15-0.19	0.29-0.42 0.15-0.18	0.29-0.42 0.16-0.18	0.34-0.45 0.17-0.20	0-0.20 0-0.13	
<i>A. sp. nov</i>	0.14-0.21 0.10-0.13	0.21-0.24 0.19-0.14	0.13-0.17 0.10-0.11	0.14-0.21 0.10-0.13	0.22 0.14	0.31-0.39 0.15-0.17	0.03 0.03
<i>Ptychoglossus</i>	0.71-0.83 0.20-0.22	0.76-0.84 0.20-0.21	0.59-0.68 0.18-0.19	0.71-0.77 0.20-0.22	0.74-0.76 0.22	0.57-0.69 0.18-0.20	0.67-0.70 0.19-0.20

Tabla 10. Resultados del análisis de delimitación de especies de cuatro especies de *Alopoglossus*, a partir de los árboles bayesianos de los genes mitocondriales ribosomales 12S y 16S , y el gen mitocondrial codificante de proteínas ND4.

Taxones ^a	Monofilia ^b	Distancia Intraespecífica ^c	Distancia Interespecífica ^d	Radio intra/inter ^e	p ID (Estricto) ^f	p ID (Liberal) ^g	P _(A B) ^h
at1 vs. at2	1	0.067	0.339	0.20	0.80 (0.68, 0.93)	0.95 (0.85, 1.0)	1.3 x 10 ⁻⁵
at1 vs. (ag, at2, b, c, sp)	3	0.095	0.443	0.21	0.79 (0.66, 0.92)	0.95 (0.85, 1.0)	4.9 x 10 ⁻⁸
at1 vs. (ag, c, sp)	4	0.055	0.225	0.24	0.77 (0.65, 0.90)	0.94 (0.84, 1.0)	6.7 x 10 ⁻⁶
at1 vs. ag	4	0.055	0.249	0.22	0.79 (0.66, 0.91)	0.95 (0.85, 1.0)	6.7 x 10 ⁻⁶
at2 vs. at1	1	0.070	0.339	0.21	0.91 (0.84, 0.97)	0.97 (0.93, 1.0)	1.3 x 10 ⁻⁵
at2 vs. b	3, 4	0.105/0.061	0.301/0.165	0.35/ 0.37	0.86 (0.79, 0.93)/ 0.85 (0.78, 0.92)	0.96 (0.91, 1.00)/ 0.95 (0.91, 1.00)	7.9 x 10 ⁻⁸ / 7.9 x 10 ⁻⁸
b vs. at2	3, 4	0.139/0.08	0.301/0.165	0.46/ 0.49	0.75 (0.66, 0.84)/ 0.74 (0.65, 0.83)	0.92 (0.87, 0.97)/ 0.92 (0.86, 0.97)	7.9 x 10 ⁻⁸ / 7.9 x 10 ⁻⁸
f vs. (a, at1, at2, b, c, sp)	2*, 3, 4	0.130/0.178/0.099	0.467/0.583/0.184	0.28/ 0.31/ 0.36	0.88 (0.81, 0.95)/ 0.82 (0.73, 0.91)/ 0.80 (0.71, 0.88)	0.96 (0.92, 1.0)/ 0.94 (0.89, 0.99)/ 0.93 (0.88, 0.99)	1.9 x 10 ⁻¹⁴ / 1.0 x 10 ⁻¹¹ / 1.0 x 10 ⁻¹¹

^aag = *Alopoglossus angulatus*, at1 = *A. atriventris* subclado 1, at2 = *A. atriventris* subclado 2, b = *A. buckleyi*, c = *A. copii*, f = *A. festae* y sp = *A. sp. nov.*

^bMonofilia = Estrategias de partición que presentaron la monofilia recíproca de interés, respectivamente: 1 = 12S, 2 = 16S, 3 = ND4, 4 = 1^{ra} posición ND4, 2^{da} posición ND4 y 3^{ra} posición ND4.

^cDistancia Intraespecífica = Promedio de las distancias genéticas del árbol entre los miembros de una especie putativa.

^dDistancia Interespecífica = Promedio de las distancias genéticas del árbol entre los miembros de una especie putativa y los miembros de la especie putativa más cercana.

^eRadio intra/inter = Radio de la distancia intraespecífica con respecto a la distancia interespecífica.

^fp ID (Estricto) = Probabilidad media (95% de intervalo de confianza) de que un miembro de una especie putativa este dentro del clado formado por otros miembros de la especie de interés.

^gp ID (Liberal) = Probabilidad media (95% de intervalo de confianza) de que un miembro de una especie putativa sea hermano al clado formado por otros miembros de la especie de interés.

^hP_(A B) = Probabilidad de monofilia recíproca bajo el modelo nulo de coalescencia randómica.**A. atriventris* grupo 2 fue parafiletico en el gen 16S.

**A. atriventris* grupo 2 fue parafiletico en el gen 16S

10. ANEXOS

Anexo 1. Nombre de las especies de *Alpoglossus*, números de colección y localidades de las muestras de tejido analizadas en el siguiente estudio. Los acrónimos museológicos son: CORBIDI (División de Herpetología, Centro de Ornitología y Biodiversidad, Lima, Perú) y QCAZ (Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador).

Especie	Número de colección	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Alopoglossus angulatus</i>	QCAZR 5571	Ecuador: Orellana: Estación Científica Yasuní, km 9 vía Tivacuno, Parcela B.	-0.675639	-76.397083
	QCAZR 6362	Ecuador: Orellana: Estación Científica Yasuní, Sendero Ceiba.	-1.001194	-76.936694
	CORBIDI 8321	Perú: Cusco: La Convención, KP 50.	-12.188537	-73.000921
	QCAZR 8489	Ecuador: Sucumbíos: Reserva de Producción Faunística Cuyabeno, cabañas Neotropic. Laguna Grande.	-0.009633	-76.181772
	QCAZR 8915	Ecuador: Pastaza: Cononaco, Bataburo Lodge.	-1.25	-76.6667
	QCAZR 9144	Ecuador: Orellana: Parque Nacional Yasuní, vía Pompeya - Iro, puente sobre el Río Beye, 80 km de Pompeya.	-0.84012	-76.30241
<i>Alopoglossus atriventris</i> Subclado 1	QCAZR 9531	Ecuador: Orellana: Río Napo, Eden, Banco Sur.	-0.49833	-76.07112
	QCAZR 4805	Ecuador: Pastaza: Palta, alrededores del caserío.	-1.80318	-77.34653
	QCAZR 5622	Ecuador: Sucumbíos: Reserva de producción Faunística Cuyabeno, cabañas Neotropic.	-0.961111	-76.1824
	QCAZR 8316	Ecuador: Pastaza: Alrededores de Villano, comunidad Tarangaro, Tarangaro Unidad 1.	-1.39514	-77.38196
	QCAZR 10227	Ecuador: Orellana: Parque Nacional Yasuní, en el sendero norte de la Parcela de 50 ha.	-0.68086667	-76.4025166

Anexo 1. Continuación

Especie	Número de colección	Localidad	Latitud	Longitud
Subclado 2	CORBIDI 5518	Perú: Cusco: La Convención: KP 59.	-12.258083	-72.842472
	CORBIDI 8831	Perú: San Martín: Picota: Chambirillo (Puesto de control 16, Parque Nacional Cordillera azul).	-7.069139	-76.004333
	CORBIDI 8832	Perú: San Martín: Picota: Chambirillo (Puesto de control 16, Parque Nacional Cordillera azul).	-7.069139	-76.004333
	QCAZR 8787	Ecuador: Pastaza: Santa Clara: Finca km 6 vía San Ramón-El Triunfo.	-1.37304	-77.86003
	QCAZR 8890	Ecuador: Pastaza: Santa Clara: Finca km 6 vía San Ramón-El Triunfo.	-1.37304	-77.86003
	QCAZR 9062	Ecuador: Zamora Chinchipe: Cordillera del Cóndor, viaje desde las Orquídeas hasta el campamento 1 del Tepuy (Miazi Alto).	-4.24584	-78.61497
	QCAZR 9063	Ecuador: Zamora Chinchipe: Cordillera del Cóndor, viaje desde las Orquídeas hasta el campamento 1 del Tepuy (Miazi Alto).	-4.24584	-78.61497
	QCAZR 9065	Ecuador: Zamora Chinchipe: Cordillera del Cóndor, camino entre campamento y Colina Norte (Miazi Alto).	-1.05	-77.6
	QCAZR 9067	Ecuador: Zamora Chinchipe: Cordillera del Cóndor, alrededor del campamento (Miazi Alto).	-4.25026	-78.61746
	QCAZR 9078	Ecuador: Zamora Chinchipe: Cordillera del Cóndor, Miazi Alto, río que baja desde el campamento.	-4.25026	-78.61746
	QCAZR 9084	Ecuador: Zamora Chinchipe: Cordillera del Cóndor, Miazi Alto, río que baja desde el campamento.	-4.25026	-78.61746

Anexo 1. Continuación

Espece	Número de colección	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Alopoglossus buckleyi</i>	QCAZR 9090	Ecuador: Zamora Chinchipe: Cordillera del Cóndor, Miazzi Alto, bosque.	-4.24619	-78.61647
	QCAZR 9167	Ecuador: Zamora Chinchipe: Las Orquídeas, Tepuy, 4 km desde el río Nangaritza (gabarra) hacia el Tepuy	-4.25659	-78.67777
	QCAZR 9001	Ecuador: Napo: Camino hacia volcán Sumaco más o menos 8 km desde Pacto Sumaco hacia Volcán.	-0.61497	-77.59065
	QCAZR 9170	Ecuador: Zamora Chinchipe: Las Orquídeas, Tepuy, 4 km desde el río Nangaritza (gabarra) hacia el Tepuy.	-4.25971	-78.6863
	QCAZR 9211	Ecuador: Morona Santiago: Macas, Macuma, Wisui.	-2.09009147	-77.76613312
	QCAZR 9961	Ecuador: Pastaza: Comunidad Ingaru, Reserva Privada Ankaku, Zona de amortiguamiento del Parque Nacional Llanganates, Río Challuwa Yaku.	-1.26764	-78.04797
	QCAZR 9971	Ecuador: Pastaza: Comunidad Ingaru, Reserva Privada Ankaku, Zona de amortiguamiento del Parque Nacional Llanganates, Río Challuwa Yaku.	-1.27035	-78.05614
	QCAZR 9986	Ecuador: Pastaza: Comunidad San Rafael, Reserva comunitaria Ankaku, zona de amortiguamiento del Parque Nacional Llanganates.	-1.26764	-78.04797
	QCAZR 10653	Ecuador: Napo: WWS, Lanisoma trail.	-0.68268	-77.59428
	QCAZR 11067	Ecuador: Napo: Reserva Ecológica Antisana, sector Cocodrilos, en el sendero Urcusiqui.	-0.65	-77.801361

Anexo 1. Continuación

Especie	Número de colección	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Alopoglossus copii</i>	QCAZR 11104	Ecuador: Tungurahua: Bosque Protector Cerro Candelaria, Sector La Soledad.	-1.426889	-78.310306
	QCAZR 11105	Ecuador: Tungurahua: Bosque Protector Cerro Candelaria, Sector La Soledad.	-1.426889	-78.310306
	QCAZR 5969	Ecuador: Napo: Puerto Misahualli, vía Pununo - Jardín Alemán.	-1.034064	-77.663555
	QCAZR 8125	Ecuador: Pastaza: Alrededor de Villano, campamento Petrolero de AGIP, Villano B Estero de Unidad 1.	-1.45303	-77.44372
	QCAZR 8289	Ecuador: Pastaza: Alrededores de Villano, Comunidad Kurintza, Kurintza Habitat Y.	-1.50765	-77.5117
	QCAZR 8314	Ecuador: Pastaza: Alrededor de Villano, Comunidad Tarangaro, Tarangaro Unidad 2.	-1.3951	-77.3838
<i>Alopoglossus festae</i>	CORBIDI 3709	Perú: Tumbes: Tumbes: El Caucho	-3.814389	-80.271
	CORBIDI 3710	Perú: Tumbes: Tumbes: El Caucho	-3.814389	-80.271
	QCAZR 6400	Ecuador: Esmeraldas: 7km oeste Durango.	1.07961	-78.66817
	QCAZR 6874	Ecuador: Esmeraldas: Reserva Ecológica Bilsa.	0.343667	-79.716183
	QCAZR 7835	Ecuador: Cotopaxi: San Francisco de Las Pampas.	-0.419440	-79.003330
	QCAZR 8442	Ecuador: Esmeraldas: Caimito, sendero en la intersección de la vía Caimito, Tonchige y el Río Quinge.	0.72096	-80.09117
	QCAZR 8991	Ecuador: El Oro: Bella María, Cerca del Valle Hermoso.	-3.51168299	-79.8202683
	QCAZR 9114	Ecuador: Guayas: Bosque Protector Cerro Blanco.	-2.178333	-80.021389
	QCAZR 9738	Ecuador: Pichincha: Mindo, Hacienda San Vicente.	-0.05072	-78.77235

Anexo 1. Continuación

Especie	Número de colección	Localidad	Latitud	Longitud
<i>Alopoglossus festae</i>	QCAZR 10386	Ecuador: Cotopaxi: Naranjito, Bosque Integral Otonga (BIO), Finca Familia Tapia.	-0.423215597	-78.95701883
	QCAZR 10666	Ecuador: Pichincha: Santa Lucía de Nanegal.	0.113528	-78.6135
	QCAZR 10821	Ecuador: Pichincha: Nanegal, Reserva Comunitaria Santa Lucía, sendero a las cascadas a 100 m de la segunda cascada.	0.11778	-78.607555
	QCAZR 11428	Ecuador: Manabí: Jama Coaque, 3,12 km oeste de Camarones.	-0.118731993	-80.12318664
<i>Alopoglossus</i> sp. <i>nov</i>	QCAZR 9080	Ecuador: Zamora Chinchipe: Cordillera del Cóndor, Miazí Alto, río que baja desde el campamento.	-4.25026	-78.61746
	QCAZR 10069	Ecuador: Morona Santiago: Napimias	-2.817716	-77.998762

Anexo 2. Nombre de las especies, números de colección y localidades de las secuencias disponibles en Genbank. Los acrónimos museológicos son: INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Amazonas, Brasil), KU (University of Kansas), LG (Laboratório de Citogenética de Vertebrados, IBUSP, São Paulo, Brasil), LSUMZ (Louisiana State University Museum of Natural Science), MHNSM (Museo de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú), MRT (Miguel Trefaut Rodrigues, IBUSP, São Paulo, Brasil) y MZUSP (Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, Brasil).

Especie	Número de colección y localidad	Número de acceso al GenBank
Grupo externo		
<i>Arthrosaura reticulata</i>	MRT 976977; Brasil: Mato Grosso: Juruena	12S: AF420676 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420722 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420894 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420841 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Bachia flavescens</i>	LSUMZ H12977; Brasil: Pará: Agropecuária Treviso, Santarém	12S: AF420705 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420753 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420869 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420859 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Calyptommatus leiolepis</i>	MRT 05055; Brasil: Bahia: Queimadas	12S: AF420683 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420712 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420874 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420858 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Cercosaura ocellata ocellata</i>	MRT 977406; Brasil: Mato Grosso: Aripuanã	12S: AF420677 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420731 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)

Anexo 2. Continuación

Especie	Número de colección y localidad	Número de acceso al GenBank
		ND4: AF420883 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420834 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Cnemidophorus ocellifer</i>	MRT 946089; Brasil: Mato Grosso: Barra do Garças	12S: AF420706 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420759 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420914 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420862 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Colobodactylus dalcyanus</i>	LG 761; Brasil: São Paulo: Campos de Jordão	12S: AF420663 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420736 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420881 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420844 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Colobosaura mentalis</i>	MRT 906448; Brasil: Bahia: Morro do Chapéu	12S: AF420694 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420726 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420899 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420842 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Colobosauroides cearensis</i>	LG 1348; Brasil: Ceará: Pacoti	12S: AF420659 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420727 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420886 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420849 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Ecpleopus gaudichaudii</i>	LG 1356; Brasil: São Paulo: Boissucanga	12S: AF420660 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420738 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420901 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420855 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)

Anexo 2. Continuación

Especie	Número de colección y localidad	Número de acceso al GenBank
<i>Gymnophthalmus leucomystax</i>	MRT 946613; Brasil: Roraima: Fazenda Salvamento	12S: AF420675 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420715 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420906 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420824 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Heterodactylus imbricatus</i>	LG 1504; Brasil: São Paulo: Serra da Cantareira	12S: AF420661 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420725 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420885 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420835 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Iphisa elegans elegans</i>	MRT 977426; Brasil: Mato Grosso: Aripuanã	12S: AF420668 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420714 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420889 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420843 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Kentropyx calcarata</i>	MRT 978224; Brasil: Mato Grosso: Vila Rica	12S: AF420707 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420760 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420913 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420864 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Leposoma oswaldoi</i>	MRT 977435; Brasil: Mato Grosso: Aripuanã	12S: AF420678 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420723 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420897 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420854 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Marinussaurus curupira</i>	INPA 19856; Brasil: Amazonas: Iranduba	12S: JF690972 (Peloso <i>et al.</i> , 2011) 16S: JF690973 (Peloso <i>et al.</i> , 2011)

Anexo 2. Continuación

Especie	Número de colección y localidad	Número de acceso al GenBank
		ND4: JF690971 (Peloso <i>et al.</i> , 2011) c-mos: JF690971 (Peloso <i>et al.</i> , 2011)
<i>Micrablepharus atticolus</i>	LG 854; Brasil: Goiás: Santa Rita do Araguaia	12S: AF420664 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420718 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420718 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420826 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Neusticurus juruazensis</i>	LSUMZ H13823; Brasil: Acre: Porto Walter	12S: AF420704 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420758 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420878 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420857 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Nothobachia ablephara</i>	LSUMZ H13823; Brasil: Acre: Porto Walter	12S: AF420704 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420758 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420878 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420857 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Pantodactylus schreibersii</i> <i>albostrigatus</i>	LG1168; Brasil: São Paulo: São Paulo	12S: AF420658 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420729 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420882 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420856 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Pholidobolus macbrydei</i>	KU 218406	12S: AY507848 (Castoe <i>et al.</i> , 2004) 16S: AY507867 (Castoe <i>et al.</i> , 2004) ND4: AY507886 (Castoe <i>et al.</i> , 2004) c-mos: AY507896 (Castoe <i>et al.</i> , 2004)

Anexo 2. Continuación

Especie	Número de colección y localidad	Número de acceso al GenBank
<i>Placosoma cordylinum</i>	LG 1006; Brasil: Rio de Janeiro: Teresópolis	12S: AF420673 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420734 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420879 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420823 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Prionodactylus argulus</i>	LSUMZ H12591; Ecuador: Sucumbios: Cuyabeno	12S: AF420698 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420751 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420896 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420838 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Procellosaurinus erythrocerus</i>	MRT 05057; Brasil: Bahia: Queimadas	12S: AF420679 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420711 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420870 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420836 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Proctoporus simoterus</i>	KU 217207	12S: AY507856 (Castoe <i>et al.</i> , 2004) 16S: AY507875 (Castoe <i>et al.</i> , 2004) ND4: AY507890 (Castoe <i>et al.</i> , 2004) c-mos: AY507902 (Castoe <i>et al.</i> , 2004)
<i>Psilophthalmus paeminus</i>	MRT 05058; Brasil: Bahía: Santo Inácio	12S: AF420702 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420710 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420872 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420825 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Ptychoglossus brevifrontalis</i>	MHNSM	12S: AY507865 (Castoe <i>et al.</i> , 2004) 16S: AY507884 (Castoe <i>et al.</i> , 2004)

Anexo 2. Continuación

Especie	Número de colección y localidad	Número de acceso al GenBank
		ND4: AY507895 (Castoe <i>et al.</i> , 2004) c-mos: AY507911 (Castoe <i>et al.</i> , 2004)
<i>Rhachisaurus brachylepis</i>	MRT 887336; Brasil: Minas Gerais: Serra do Cipó	12S: AF420665 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420737 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420877 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420853 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Stenolepis ridleyi</i>	MZUSP 78724; Brasil: Ceará: Mulungú (Sitio Lorena)	12S: EF405618 (Rodrigues <i>et al.</i> , 2007) 16S: EF405619 (Rodrigues <i>et al.</i> , 2007) ND4: EF405620 (Rodrigues <i>et al.</i> , 2007) c-mos: EF405622 (Rodrigues <i>et al.</i> , 2007)
<i>Tretioscincus agilis</i>	MRT 978177; Brasil: Mato Grosso: Vila Rica	12S: AF420681 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420732 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420891 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420837 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
Grupo interno		
<i>Alopoglossus angulatus</i>	LG 1026; Brasil: Rondônia: Guajará Mirim	12S: AF420693 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420744 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420909 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420847 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Alopoglossus atriventris</i>	LSUMZ H13856; Brasil: Acre: Porto Walter	12S: AF420695 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420746 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420908 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)

Anexo 2. Continuación

Especie	Número de colección y localidad	Número de acceso al GenBank
		c-mos: AF420821 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)
<i>Alopoglossus copii</i>	LSUMZ H12692; Ecuador: Sucumbíos: Cuyabeno	12S: AF420692 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) 16S: AF420745 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) ND4: AF420865 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001) c-mos: AF420819 (Pellegrino <i>et al.</i> , 2001)

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Simón Eduardo Lobos Parreño, C.I. 171595349-1, autor del trabajo de graduación titulado: “Sistemática molecular de las lagartijas del género *Alopoglossus* (Autarchoglossa: Gymnophthalmidae) en el Ecuador”, previa a la obtención del grado académico de LICENCIADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales:

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 17 de Mayo del 2013

Sr. Simón Eduardo Lobos Parreño

C.I. 171595349-1